

année 1979

N°

300

INTERET D'UNE NOUVELLE TECHNIQUE
DE DOSAGES ENZYMATIQUES
DANS LE DOMAINE GYNECOLOGIQUE
ET OBSTETRICAL

THESE

présentée à

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON

et soutenue publiquement le 10 juillet 1979

pour obtenir le grade de DOCTEUR EN MEDECINE

par

CHALON

MARC

né 26 Octobre 1949

LYON (Rhône)

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

U.E.R. MEDECINE LYON-NORD

année 1979

N°

**INTERET D'UNE NOUVELLE TECHNIQUE
DE DOSAGES ENZYMATIQUES
DANS LE DOMAINE GYNECOLOGIQUE
ET OBSTETRICAL**

THESE

présentée à

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON

et soutenue publiquement le 10 juillet 1979

pour obtenir le grade de **DOCTEUR EN MEDECINE**

par

CHALON **MARC**

né 26 Octobre 1949

LYON (Rhône)



UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

U.E.R. MEDECINE LYON-NORD

8, avenue Rockefeller

69373 LYON CEDEX 2

TABLEAU DU PERSONNEL DE L'UNIVERSITE

Président de l'Université : Professeur D. GERMAIN

Premier Vice-Président : Professeur E. ELBAZ

Deuxième Vice-Président : M. B. ROUSSET

Troisième Vice-Président : M. BRULA

Secrétaire Général : M. RAMBAUD

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DE L'UNIVERSITE

MEDECINE Grange-Blanche : Directeur : Professeur SALLE
Alexis Carrel : Directeur : Professeur MORNEX
Sud-Ouest : Directeur : Professeur NORMAND
Lyon-Nord : Directeur : Docteur NEIDHARDT (M.C.A.)
Directeur Honoraire : Professeur A. BERTOYE

BIOLOGIE HUMAINE : Directeur : Professeur REVILLARD J.P.

TECHNIQUES DE READAPTATION : Directeur : Docteur MORGON (M.C.A.)

SCIENCES PHARMACEUTIQUES : Directeur : Professeur BIZOLLON C.

SCIENCES ODONTOLOGIQUES : Directeur : Professeur VINCENT R.

INSTITUT REGIONAL D'EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE :

Président du Conseil de l'U.E.R. : Professeur R. GUILLET

Directeur : M. MILLON A.

MATHEMATIQUES : Directeur : Professeur Ph. PICARD

PHYSIQUE : Directeur : Professeur J. DELMAU

CHIMIE et BIOCHIMIE : Directeur : Professeur J. HUET

SCIENCES DE LA NATURE : Directeur : Professeur R. GINET

SCIENCES PHYSIOLOGIQUES : Directeur : Professeur WORBE J.F.

INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE N° 1 : Directeur : M. VILLE A. (MCA)

INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE N° 2 : Directeur : M. GALLET J.

Directeur E.N.S.A.M.

OBSERVATOIRE : Directeur : M. MONNET Guy

PHYSIQUE NUCLEAIRE : Directeur : Professeur GUSAKOW

MECANIQUE : Directeur : Melle COMTE BELLOT

Digitized by the Internet Archive
in 2026

JURY DE LA THESE

Président Monsieur le Professeur CHARVET

Membres Monsieur le Professeur GILLY
 Monsieur le Professeur CZIBA
 Monsieur le Professeur Agrégé DARGENT
 Monsieur le Docteur DEVIC
 Monsieur le Professeur LAVIOLETTE
 Monsieur le Docteur MENEZO

JE DEDIE CE TRAVAIL

A ma Femme

A mes Fils Laurent et Benjamin

A mes Parents

A ma Soeur et à mon Frère

A toute ma famille

A Soeur Marie Damien et à Soeur Marie Christine

A tous mes amis

A NOTRE PRESIDENT DE THESE ET MAITRE

Monsieur le Professeur F. CHARVET

Nous lui devons d'avoir découvert l'obstétrique et la gynécologie. Nous avons pu profiter de la richesse de son enseignement, de la justesse de son diagnostic et de ses qualités humaines.

Il nous a fait le grand honneur de présider le Jury de cette thèse et nous le prions de bien vouloir accepter l'expression de notre gratitude.

AUX MEMBRES DE NOTRE JURY

Monsieur le Professeur GILLY

Nous lui savons gré d'avoir accepté d'être un de nos
juges

Monsieur le Professeur CZIBA

Nous avons apprécié ses connaissances dans le domaine de
la biologie de la reproduction et de l'embryologie.

Nous le remercions vivement d'avoir accepté de nous juger.

Monsieur le Professeur Agrégé D. DARGENT

Nous avons bénéficié de la qualité de son enseignement.

Nous le remercions de bien vouloir juger notre travail.

Monsieur le Docteur G. DEVIC

Vous avez été notre Maître pendant de nombreuses années. Votre expérience, votre habileté et vos connaissances chirurgicales constituent pour nous un modèle quotidien.

Veillez trouver ici le témoignage de notre respectueux attachement.

Monsieur le Professeur LAVIOLETTE

Vous avez bien voulu nous accueillir dans votre laboratoire afin d'effectuer nos recherches.

Veillez accepter nos remerciements.

Monsieur le Docteur MENEZO

Vous avez été notre guide pendant toute la durée de ce travail. Nous avons pu apprécier l'importance de vos connaissances biochimiques et celles très étendues concernant les problèmes de la fécondation.

Soyez assuré de nos sentiments amicaux.

Je tiens à remercier le Docteur J. GARDE qui nous a prodigué pendant de nombreuses années ses conseils et qui nous a fait profiter de son expérience. Nous avons apprécié ses qualités humaines et nous avons toujours trouvé auprès de lui aide et compréhension.

Je remercie la Société API qui nous a fourni les moyens de mener à bien ce travail.

Je remercie Madame KHATCHADOURIAN qui nous a aidé pour nos analyses.

A NOS MAITRES DANS LES HOPITAUX

Monsieur le Professeur KALB

Monsieur le Professeur JAUBERT DE BEAUJEU

Monsieur le Professeur MAILLET

Monsieur le Professeur Agrégé CR. MICHEL

Monsieur le Professeur BERTOYE

Monsieur le Professeur CHARVET

A NOS MAITRES EN OBSTETRIQUE ET EN GYNECOLOGIE

Monsieur le Professeur CHARVET

Monsieur le Professeur ROCHET

SOMMAIRE

- DEFINITION ET RAPPELS BIOCHIMIQUES
- SYSTEME API ZYM
- RESULTATS OBTENUS DANS DIFFERENTS DOMAINES D'APPLICATION
- APPLICATIONS EN GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE
 - LIQUIDES AMNIOTIQUES
 - * ANALYSE DE CHAQUE ACTIVITE
 - * ETUDE DES PROFILS ENZYMATIQUES
 - EQUIPEMENT ENZYMATIQUE DU MECONIUM
 - SEINS
 - * ANALYSE DE CHAQUE ACTIVITE
 - * ETUDE DES PROFILS ENZYMATIQUES
 - ENDOMETRES
 - MYOMES UTERINS
 - COL UTERIN
 - OVAIRES

I N T R O D U C T I O N

L'enzymologie est une partie de la biochimie à la fois bien connue du corps médical mais aussi relativement obscure : la médecine recourt quotidiennement aux dosages enzymatiques (phosphatases alcaline et acide, transaminases ...) ; Par contre, leur rôle encore assez méconnu à ce jour, il faut le souligner, et leur mode d'action restent pour beaucoup de médecins ignorés.

Les progrès dans le domaine de la recherche enzymatique ont été considérables ces vingt dernières années, mais les techniques de mise en évidence et de dosage nécessitent de plus en plus des laboratoires spécialisés et un matériel très sophistiqué.

La méthode que nous allons utiliser a été imaginée en 1967 par le Médecin en Chef BUISSIERE et collaborateurs pour la recherche bactériologique. L'évolution de la technique, la multiplication des tests, a été progressive depuis. C'est à MONGET que l'on doit sa mise au point définitive (1978 - thèse de Doctorat).

Des travaux réalisés en comparaison avec des techniques classiques, prouvent l'intérêt et la fiabilité du système commercialisé par la société API ZYM.

Il ne nécessite ni appareillage complexe, ni connaissances biochimiques approfondies et par voie de conséquence son prix de revient est très faible.

Un autre intérêt très important est la possibilité d'obtenir simultanément le dosage de 70 activités enzymatiques.

Lorsque nous avons entrepris ce travail, nous nous sommes fixés 2 objectifs :

- * explorer l'activité enzymatique du liquide amniotique, des

seins pathologiques ou non, des endomètres, des ovaires, pour voir quelles enzymes étaient présentes ; En effet, les travaux réalisés antérieurement sont assez rares et parcellaires. Cet objectif a été réalisé assez rapidement.

* le deuxième objectif, plus ambitieux sans doute, mais aussi plus intéressant a été de relier les modifications de l'activité enzymatique avec une pathologie donnée. Ce travail de plus longue haleine et nécessitant la multiplication des cas cliniques, afin de tirer des conclusions formelles, ne peut à ce jour être définitivement clos. Les conclusions que nous donnerons seront encore très hypothétiques et sans doute même parfois erronées.

Nous sommes convaincus cependant, que l'enzymologie en permettant de pénétrer au coeur des cellules et des métabolismes ouvre de larges perspectives d'avenir.

Dans une première partie nous ferons quelques rappels très succincts sur les enzymes, puis un exposé de la méthode API ZYM et des résultats obtenus dans différents domaines.

Dans un deuxième temps nous analyserons nos résultats en les complétant par les travaux effectués antérieurement. Je citerai la thèse de Madame GALERNE résumant les recherches effectuées et apportant ses propres résultats obtenus par des techniques différentes des nôtres.

La partie essentielle de notre travail, car la plus avancée, sera consacrée au liquide amniotique, mais nous aborderons aussi les premiers résultats que nous avons trouvés dans le cancer du sein, la pathologie utérine et ovarienne.

CHAPITRE I

DEFINITION et RAPPELS BIOCHIMIQUES

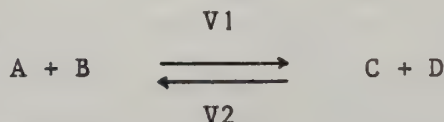
On peut définir une enzyme comme un catalyseur protéique, thermolabile ; elle est produite par un organisme vivant, mais peut agir en dehors de celui-ci.

I - CATALYSE

Prenons comme exemple l'hydrolyse de l'acétate d'éthyle par l'eau :



Cette réaction s'effectue spontanément à une certaine vitesse, mais elle est limitée par la réaction inverse ; l'hydrolyse se poursuit jusqu'à ce qu'un équilibre, régit par la loi d'action de masse, soit atteint



$$V_1 = V_2$$

Si cette réaction s'effectue en présence d'une trace d'acide minéral, la vitesse s'accroît considérablement : dans le premier cas il fallait plusieurs semaines alors que dans le second cas l'équilibre est atteint en quelques heures. L'acide minéral est retrouvé intégralement dans le milieu réactionnel. On donne à ces substances le nom de catalyseur dont l'action peut être résumée :

- la présence du catalyseur ne crée pas la réaction, mais intervient seulement en modifiant sa vitesse.
- le catalyseur semble ne participer en rien à la réaction et se retrouver intact à la fin de celle-ci.
- quand la réaction est réversible, il accélère également les vitesses des 2 réactions inverses et ne modifie pas l'équilibre final.

L'enzyme répond en tous ces points à la définition d'un catalyseur.

II - ACTIVITE de l'ENZYME

Les enzymes agissent à des concentrations très faibles.

1 g d'uréase libère en 5 minutes 133 g d'ammoniac à partir de l'urée.

1 molécule de catalase décompose 5.000.000 de molécules d'eau oxygénée en 1 minute.

Spécificité enzymatique

La spécificité enzymatique est de 2 types :

- Spécificité de réaction

Une enzyme ne peut catalyser qu'une réaction :

- décarboxylation ——— décarboxylase

- transamination ——— transaminase

- Spécificité de substrat

Elle est très variable :

- Certaines enzymes agissent sur tout un groupe de corps comme les protéases, les lipases ou les estérases. Cependant les estérases n'agissant pas avec la même vitesse sur tous les esters.

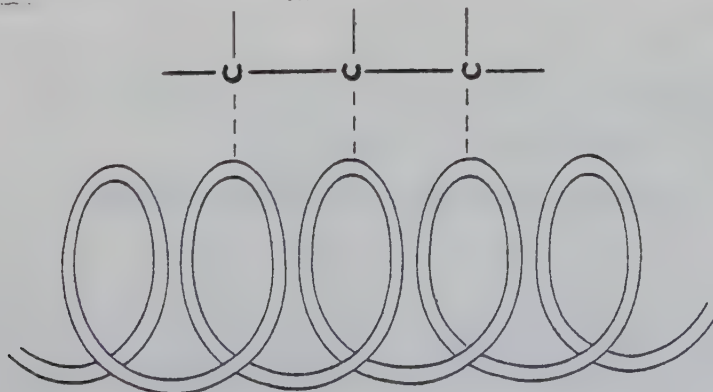
- d'autres n'agissent que sur un seul corps (arginase, uréase ...) et parfois même sur un seul isomère (glycosidase ...) : on parle alors de stéréospécificité.

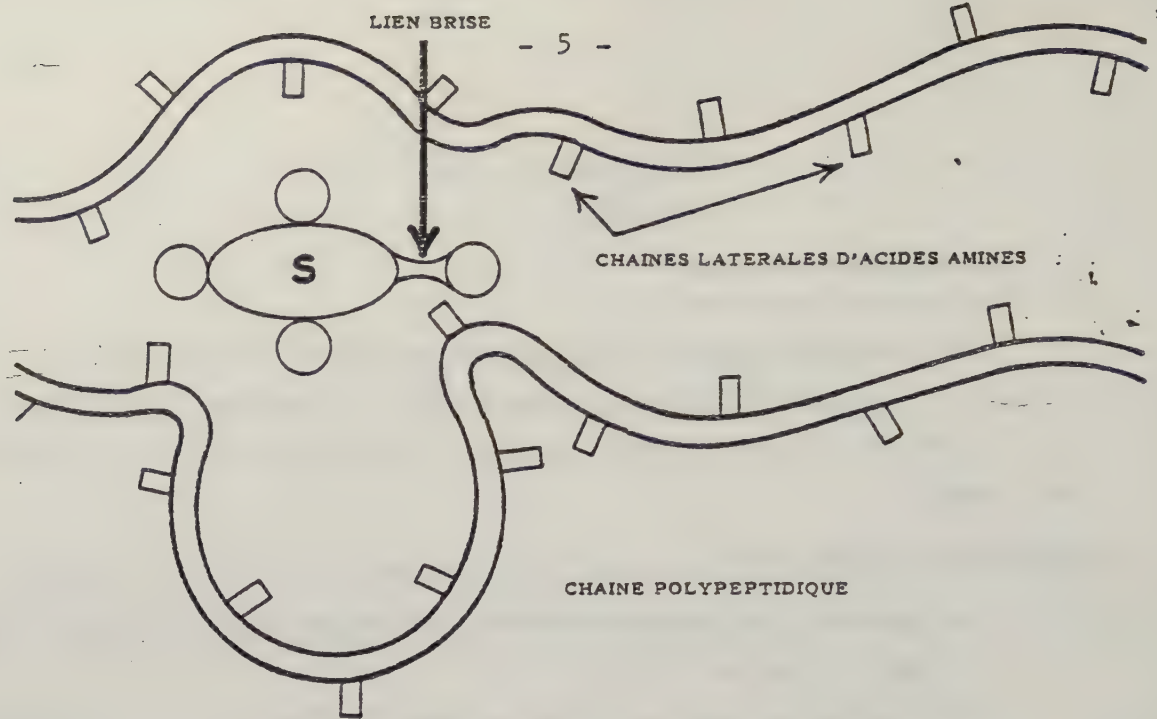
Théorie de MICHAELIS

Pour expliquer cette stéréospécificité MICHAELIS forme l'hypothèse suivante :

pour exercer son activité catalytique l'enzyme doit former avec le substrat une combinaison transitoire qui ne peut avoir lieu que s'il existe une complémentarité de structure entre l'enzyme et le substrat.

Ceci semble actuellement confirmé, le substrat s'attache à l'enzyme par au moins 2 ou 3 points : ce sont les sites actifs de l'enzyme qui sont des acides aminés.





III - CONSTITUTION des ENZYMES

Le mécanisme est encore mal connu, mais on sait qu'une enzyme est souvent composée de 2 fractions :

- une protéique, l'apoenzyme
- l'autre non protéique, le coenzyme

l'ensemble formant un holoenzyme.

Le coenzyme peut être un métal (Fe - Cu - Zn ...), une vitamine (B6 ...) ou un dérivé d'une purine (NAD - FAD - ...).

Certaines enzymes peuvent se présenter sous divers types moléculaires qui ont la même activité catalytique, mais dont les propriétés chimiques et électrophorétiques sont différentes. Ce sont des isoenzymes : on connaît actuellement 5 et même peut être 9 isoenzymes de la lactico-déshydrogénase.

IV - CONDITIONS de la REACTION ENZYMATIQUE

1 - Température

Elle augmente la vitesse de la réaction enzymatique selon la loi générale

$Q_{10} = 2$ (doublement de la vitesse lorsque la température s'élève de 10°)

Mais la température agit aussi en dénaturant les enzymes : la température de dénaturation est variable selon l'enzyme et est d'autre part influencée par la durée de la réaction, le milieu ...

Il existe donc une température optimale.

2 - PH

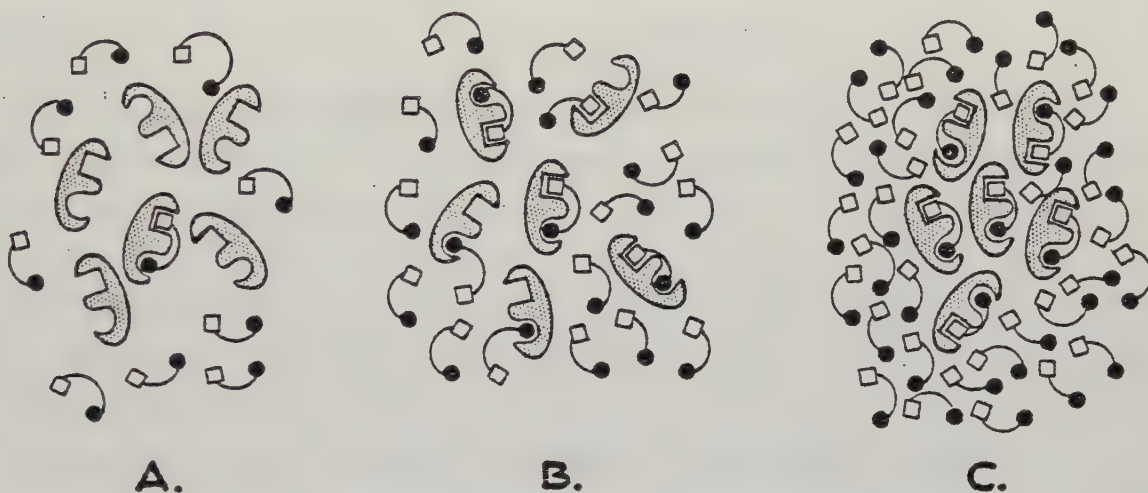
Chaque enzyme a un PH optimal d'action déterminé :

Phosphatase acide 5,4

Phosphatase alcaline 8,5

3 - Concentration des réactifs

Si les réactifs (enzyme et substrat) sont à des concentrations élevées, les collisions sont plus fréquentes et la vitesse des réactions plus grandes.



V - CLASSIFICATION des ENZYMES

Actuellement plus de 1 000 enzymes ont été décelées dans les tissus animaux et végétaux ainsi que dans les micro-organismes.

La classification que nous adoptons est celle que nous avons rencontrée dans les travaux d'enzymologie amniotique.

6 grandes classes :

- oxydoréductases : ces enzymes catalysent les oxydo réductions entre une paire de substrat A et B



- Transférases : les enzymes catalysent le transfert d'un groupement X autre que l'hydrogène entre une paire des substrat A et B



- Hydrolases : les enzymes catalysent l'hydrolyse des liaisons ester, éther, peptidique, glucosidique, anhydride, C - C, C-halogène ou P - N.
- Lyases : ces enzymes détachent certains groupements de substrat par des mécanismes autres que l'hydrolyse, laissant des doubles liaisons
$$C X - C Y = X Y + C = C$$
- Isomérases : ces enzymes catalysent la transformation des isomères optiques, géométriques ou de position.
- Ligases : ces enzymes catalysent la liaison de 2 composés en même temps que la rupture d'un lien pyrophosphate en ATP ou en un composé similaire.

CHAPITRE II

SYSTEME API ZYM et TECHNIQUE de DOSAGE

DESCRIPTION

Celle-ci sera très sommaire : les détails de la mise au point et de la technique sont contenus dans la thèse du Docteur-Ingénieur MONGET (1978) auquel j'emprunte les conclusions de ce chapitre.

Le système API ZYM se présente sous la forme d'une plaquette incluse dans une boîte individuelle d'incubation et dans laquelle sont disposées de petites cuves de 200 microlitres de volume.

A chaque microcuve correspond une réaction enzymatique définie.

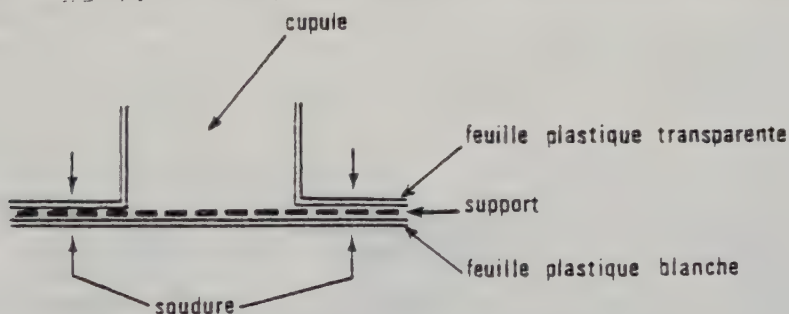
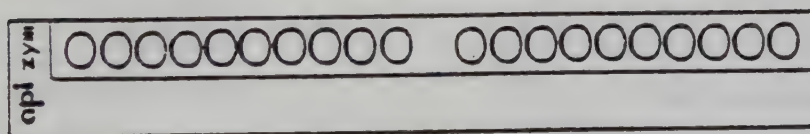
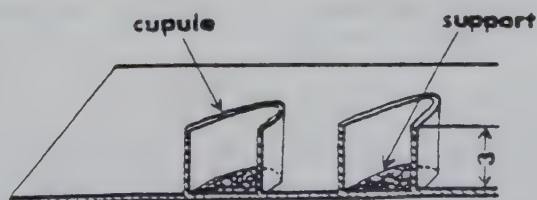
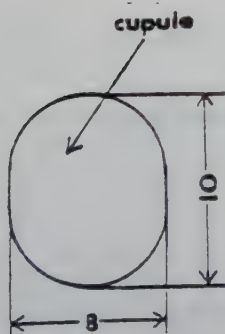


Figure n° 2 : Réalisation d'une cupule API ZYM.



Le dispositif API ZYM.



Matériau

Le matériau utilisé est le chlorure de polyvinyl (PVC) associé à des plastifiants pour lui donner de la souplesse.

Support

Le support correspond à 3 exigences :

- être inerte chimiquement
- être insoluble aux solvants organiques
- posséder une texture suffisamment lache pour que les molécules absorbées soient accessibles aux liquides et broyats cellulaires.

Le support retenu est en viscose, présentant toutes les caractéristiques voulues.

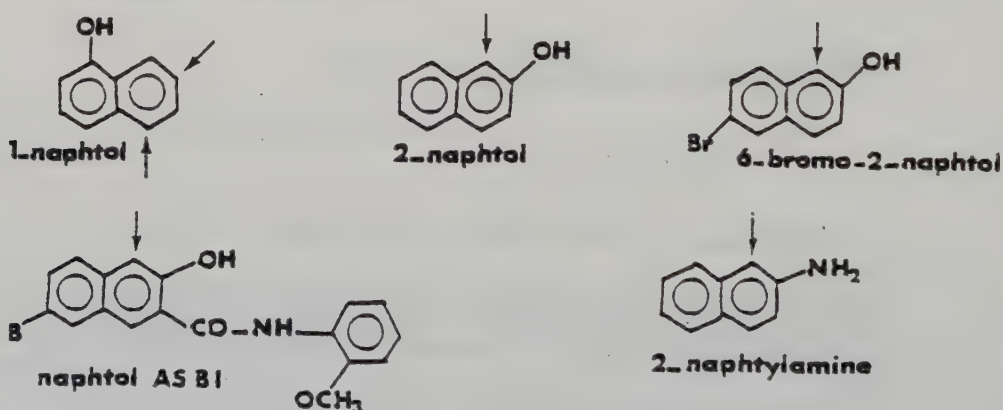
Substrats

Le choix des substrats a répondu à 2 exigences :

- utiliser des substrats très chromogènes
- homogénéiser les substrats pour limiter la manipulation et les réactifs à ajouter

Les substrats au naphtol ont été retenus car ils forment avec un sel de diazonium, un complexe très coloré.

Les substrats retenus dans notre étude sont constitués de cinq composés naphtoliqes différents.



NB : les flèches indiquent la position de couplage avec les sels de diazonium

Tampons

Les enzymes ont un maximum d'activité à des pH différents.

Il a fallu donc pour stabiliser le pH dans chaque cupule, utiliser des tampons à base de tris (hydroxyméthylaminométhane)

TRIS - maléate 0,05 M gamme de pH 5,08 à 8,45

TRIS HCL 0,05 7,19 à 9,10

Imprégnation des galeries

Chaque cupule contient :

- 100 nanomoles de substrat
- le pouvoir tampon pour 2 gouttes d'échantillon biologique

Les galeries séchées peuvent être conservées plus d'un an à 4°C en atmosphère déshydratée.

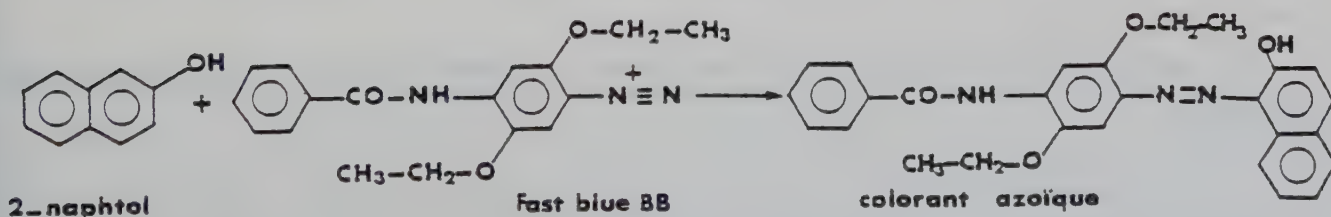
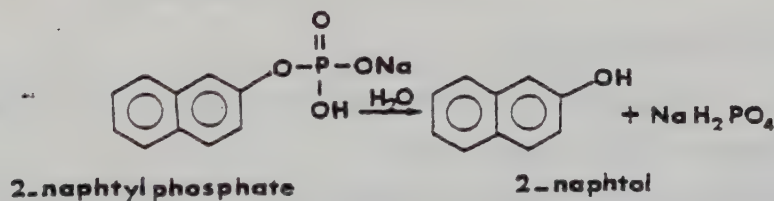
PRINCIPE de MISE en EVIDENCE

Dans un premier temps le substrat à base de naphtol est hydrolysé par l'enzyme recherchée.

Dans un deuxième temps, le dérivé naphtolique libéré est révélé colorimétriquement par couplage avec un sel de diazonium (Fast blue BB). Il a été retenu sur les 8 sels de diazonium utilisables.

L'intensité de la coloration est obtenue directement, proportionnellement à la quantité de naphtol libérée, et donc à l'activité enzymatique.

Mise en évidence de la phosphatase alcaline



MODE OPERATOIRE

Mettre dans la boîte d'incubation 5 ml d'eau à répartir sur le fond dans les alvéoles prévues à cet usage. Ceci permettra de constituer une atmosphère humide et évitera l'évaporation de l'échantillon pendant l'incubation.

- Préparation de l'échantillon

* Pour les liquides (liquide amniotique)

On utilise le liquide brut ou dilué dans l'eau distillée, si la quantité est insuffisante ou si l'activité enzymatique est trop importante.

* Pour les tissus : après pesée de l'échantillon, on pratique soit :

- un broyage au tube de POTER
- un dépôt dans un tube contenant de l'eau distillée et qui, par hypotonie, fera éclater les cellules.

On ajoute 1cc pour 30 mg de substance.

* Pour les suspensions cellulaires (cultures de tissu, spermatozoïdes ...)

Après centrifugation il faut diluer l'échantillon soit par eau distillée, soit par sérum physiologique pour obtenir une concentration cellulaire de 10^5 à 10^6 par ml selon l'intensité enzymatique de l'échantillon.

* Pour les micro-organismes

Il faut préparer une suspension dense de densité optique déterminée (tube 5-6 de l'échelle de Mc FARLAND) dans un milieu de survie à partir d'un prélèvement sur gélose d'une culture pure ou d'un culot de centrifugation pour une culture en milieu liquide.

- Manipulation proprement dite

Une fois l'échantillon préparé, on le répartit à la pipette Pasteur à raison de 2 gouttes ($65 \mu l$) par cupule.

Les plaquettes sont mises à incuber de 2 à 4 heures à 37° sauf pour les deshydrogénases où 1/2 heure environ suffit.

A la fin on ajoute dans chaque cupule 1 goutte de la solution du sel de Fast blue BB obtenue ainsi :

on introduit 35 mg de Fast blue BB dans l'ampoule dont la composition est la suivante :



ECHELLE COLORIMETRIQUE

- tris (hydroxymethyl) aminométhane 250 g
- HCL 37 % 110 ml
- lauryl sulfate de Na 100 g
- eau distillée 1 l

Le réactif API ZYM doit être conservé à température ambiante, tandis que la poudre Fast blue BB est à conserver à 4°C. Le mélange doit être fait extemporai-
rement ou est présenté en solution dans le méthoxy-éthanol.

Après agitation, il faut laisser les colorations se développer pendant
5 minutes et si possible soumettre les plaquettes au rayonnement d'une lampe
puissante (1 000 W) pendant 10sec afin de stopper la réaction en inactivant le sel
de diazonium restant.

On peut obtenir le même résultat par exposition solaire quelques minutes.
Les colorations obtenues restent stables plusieurs heures en solutions. Il est
possible de sécher les plaquettes et de les conserver à l'obscurité et au sec.

- Lecture du test

* lecture semi quantitative

Elle est la plus simple et se fait directement à l'oeil (c'est celle que nous
avons adoptée).

Quatre colorations sont obtenues pour lesquelles l'oeil a une sensibilité
voisine

- marron - "lie de vin" - bleu - orange -

Selon l'intensité de la coloration on attribue une note de 0 à 5.

A chaque intensité correspond une libération de naphtol (en nanomoles)

0	négatif
1	5 nM de Naphtol libéré
2	10 " "
3	20 " "
4	30 " "
5	40 - 50 et plus

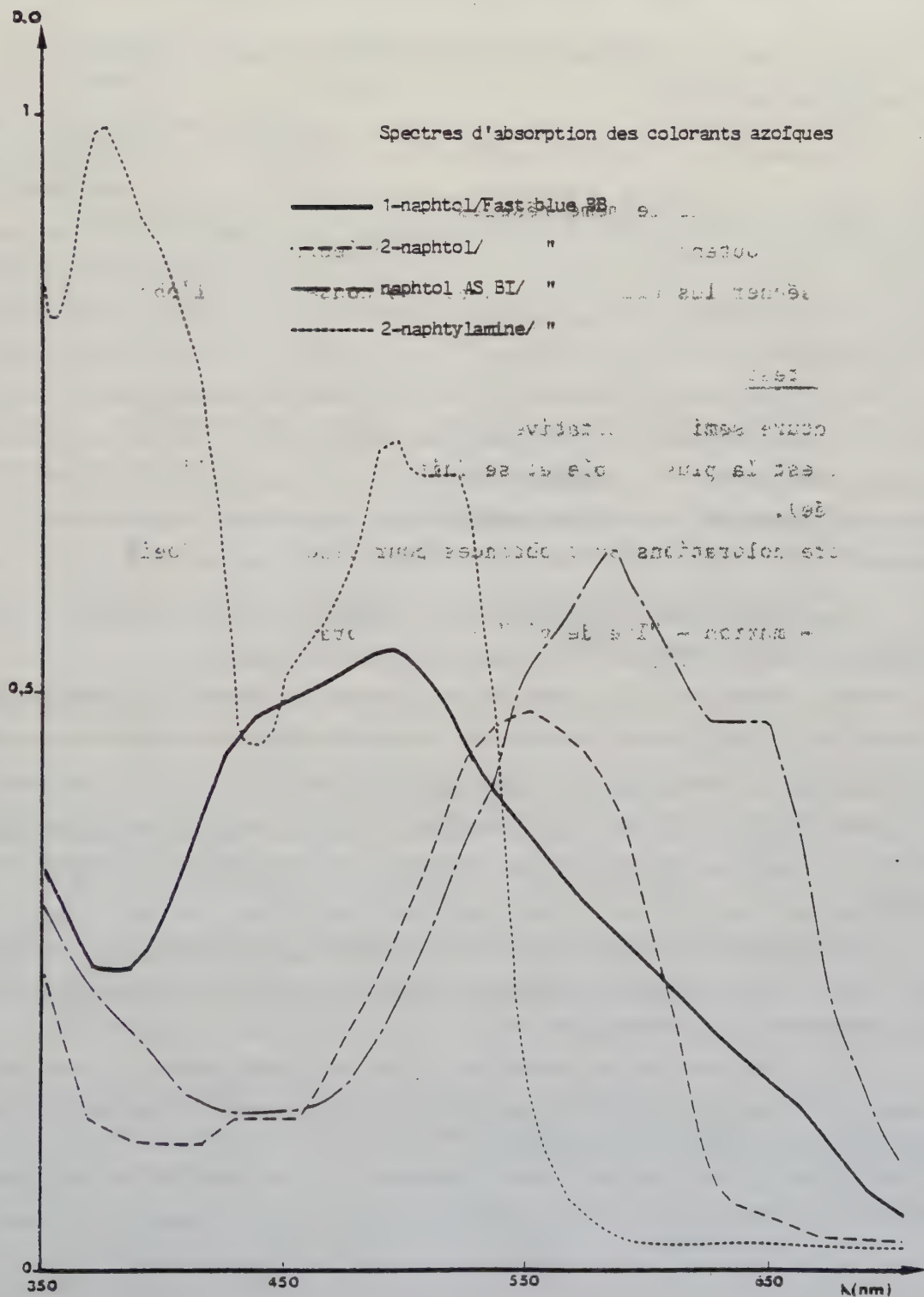
Cette lecture est très sensible puisque l'oeil est capable d'apprécier une
coloration de 2 nanomoles par cupule.

* lecture quantitative

Si l'on veut supprimer le facteur subjectif de la lecture directe, on peut
utiliser un densitomètre de type VERNON pour estimer les activités enzymatiques.

La lecture est réalisée en lumière blanche (courbe d'absorption).

Comme le faisceau lumineux doit traverser la plaquette, il faut au préalable, effectuer une lecture, la galerie étant vide, afin de déduire l'absorption propre de chaque cupule.



Pour terminer ce chapitre je ne peux mieux faire que d'emprunter les conclusions du Docteur-Ingénieur MONGET, responsable de la mise au point des microtests.

Il analyse les avantages de ces techniques mais aussi ses faiblesses : "Actuellement, nous disposons de 70 tests différents, qui peuvent tous être pratiqués rapidement sur un même échantillon biologique (tableau). A notre connaissance, aucune autre méthode n'est capable d'une telle performance.

a) De nombreux arguments pourraient être opposés au microdispositif que nous avons mis au point.

- La gamme de 70 caractères que nous proposons ne concerne que certains représentants de 2 classes d'enzymes : les hydrolases et les deshydrogénases (oxydo-réductases). Beaucoup d'autres enzymes, qui jouent un rôle métabolique essentiel, n'ont pu être ajoutées à cette liste, soit parce qu'il n'existe pas de substrats chromogènes pour les mettre en évidence, soit qu'il est difficile de les doser colorimétriquement en utilisant le dispositif API ZYM. Néanmoins, si la perturbation d'un des mécanismes cellulaires affecte des enzymes "cibles" que nous ne pouvons pas détecter, elle doit se répercuter sur d'autres systèmes enzymatiques. Nous pouvons donc penser que la méthode API ZYM doit dans bien des cas rendre compte de ce désordre métabolique (processus de cancérisation, par exemple).

- Les conditions dans lesquelles se déroulent les différentes réactions enzymatiques sur API ZYM ne sont pas toujours optimales :

* Il est vrai que le pH fixé pour chacun des tests ne correspond pas forcément au pH qui assure le meilleur fonctionnement des enzymes que l'on recherche. Nous sommes conscients que ce pH dépend de la source enzymatique. Mais comme, il était impossible d'adapter les réactions à chaque matériel étudié, nous avons choisi la solution d'un compromis en adoptant un pH moyen pour chaque caractère.

* Le choix des tampons peut être également critiquable. Il est en effet probable que les vitesses de certaines réactions seraient augmentées si le tris-hydroxyméthyl-aminométhane avait été remplacé par d'autres sels.

* La concentration en substrats n'est pas suffisamment élevée pour que les vitesses des réactions enzymatiques atteignent leur valeur maximale et ne dépendent pas de cette concentration.

* Aucun activateur (anions, cations, par exemple) n'est ajouté aux solutions d'inoculation des galeries prêtes à l'emploi, bien que dans certains cas la présence d'un tel réactif puisse s'avérer indispensable pour que se manifeste l'activité d'une enzyme. Mais les exigences fonctionnelles d'une enzyme, différentes suivant l'origine, paraissent difficilement compatibles avec l'addition d'un activateur particulier, dont on peut supposer par ailleurs qu'il est présent, même à l'état de traces, dans l'extrait non purifié à tester.

- Le fait que l'ensemble des réactions enzymatiques mises en jeu n'évolue pas à la même vitesse représente parfois un inconvénient qui oblige l'utilisateur des galeries à multiplier le nombre de temps d'incubation et donc le nombre des essais.

- L'emploi d'un échantillon biologique brut n'offre sans doute pas les meilleures conditions pour étudier des activités enzymatiques. Il est en effet vraisemblable que se produisent des interférences, liées d'une part à la présence éventuelle d'inhibiteurs dans l'extrait, d'autre part à ce que la positivité d'un caractère peut être le résultat de l'action de plusieurs enzymes, etc ... C'est pourquoi, il convient de parler d'activités enzymatiques plutôt que d'enzymes au sens strict.

- Certains caractères manquent de spécificité. Nous n'ignorons pas en effet que parfois des enzymes distinctes sont capables de scinder un même substrat et qu'à l'inverse une enzyme peut hydrolyser plusieurs substrats différents.

- La réunion de nombreux caractères sur une même galerie n'est pas toujours souhaitable si l'étude de ceux-ci montre que seul l'un d'entre eux ou un petit nombre présente un intérêt dans le cadre d'un travail donné.

- Enfin, ces tests n'atteignent pas la précision des mesures spectrophotométriques. Mais, comment pourrait-il en être ainsi avec des cupules qui n'ont aucune des qualités optiques de cuves en quartz ou même en verre ? Cependant, nous pensons que la précision de l'ordre de 15 % sur les mesures au densitomètre est suffisante dans bien des cas pour mettre en évidence des variations d'activités enzymatiques liées à des désordres métaboliques.

b) A vrai dire, ces microtests n'ont pas été conçus dans le but de se substituer aux techniques classiques de dosages enzymatiques, pas plus qu'aux techniques de séparation électrophorétiques. Par contre, elles peuvent grandement orienter les unes et les autres en mettant en évidence dans son état brut une

partie de l'équipement enzymatique d'un quelconque échantillon biologique.

Les atouts majeurs de cette méthode reposent sur la miniaturisation et la simplicité du dispositif utilisé qui sont deux conditions essentielles, pour permettre à la fois la multiplicité des tests et la rapidité de leur mise en oeuvre. Pour y parvenir, une normalisation de toutes les étapes de la méthodologie s'imposait. Nous pensons avoir réussi dans ce domaine en limitant au strict minimum le nombre d'opérations élémentaires nécessaires à la réalisation de chaque test.

Dans la pratique, les conditions d'aseptie sont inutiles en raison de la rapidité des mesures. En bactériologie, les éventuelles contaminations d'origine atmosphérique sont absolument négligeables, comparativement à la concentration des suspensions utilisées.

L'information qu'on peut attendre de cette technique est très diversifiée, grâce au nombre important de tests différents auxquels il est possible de soumettre un même extrait biologique, y compris dans les cas où cet extrait n'est disponible qu'en faible quantité. Même si l'accumulation des données ne semble pas à priori toujours justifiée, puisque souvent seuls quelques caractères sont jugés dignes d'intérêts, l'expérience montre qu'un examen détaillé systématique est dans bon nombre de cas riche en résultats inattendus, et le cas échéant, précieux. Il convient donc de pratiquer sur un matériel donné le plus grand nombre possible de tests puisque tous sont susceptibles de contribuer à sa caractérisation par l'information que chacun apporte.

Les diverses activités enzymatiques peuvent être estimées à l'oeil mais également être quantifiables à l'aide d'un densitomètre. La méthode apparaît très sensible, puisqu'il est possible d'apprécier une hydrolyse de 2 nanomoles de substrat à base de naphthol.

L'ensemble de ces mesures conduit à l'établissement d'un "profil enzymatique" ou "spectre enzymatique" ou "zymogramme" du matériel étudié. Les "profils enzymatiques" peuvent être utilisés pour effectuer un diagnostic différentiel lorsqu'on compare plusieurs échantillons entre eux. Le "screening" bactérien en est un des multiples exemples d'application.

Les informations contenues dans chacun des profils peuvent être traitées automatiquement. D'ailleurs, les moyens informatiques deviennent très rapidement indispensables devant l'abondance des données qu'on est amené à recueillir lorsqu'on doit analyser de nombreux échantillons dans une étude comparative.

Enfin la miniaturisation des tests et leur grande sensibilité contribuent fortement à en diminuer le prix de revient. Le coût généralement élevé des substrats synthétiques n'est plus un handicap pour la méthode, compte tenu des très faibles quantités utilisées. Nous pensons que ce détail mérite d'être souligné puisqu'il rend possible la pratique d'un examen systématique et complet de chaque matériel étudié."

LISTE DES ACTIVITES ENZYMATIQUES
SUSCEPTIBLES D'ETRE DETECTEES PAR LA METHODE API ZYM

N°	ENZYME	pH d'utilisation
1	témoin	-
2	phosphatase alcaline	8,5
3	estérase (C 4)	7,5
4	estérase/lipase (C 8)	7,5
5	lipase (C 14)	7,5
6	L-leucine-2-naphtylamidase	7,5
7	L-valine-2-naphtylamidase	7,5
8	L-cystine-2-naphtylamidase (ocytocinase)	7,5
9	trypsine	8,5
10	chymotrypsine	7,5
11	phosphatase acide	5,4
12	phosphoamidase	5,4
13	α D-galactosidase	5,4
14	β D-galactosidase	5,4
15	β D-glucuronidase	5,4
16	α D-glucosidase	5,4
17	β D-glucosidase	5,4
18	N-acétyl- β D-glucosaminidase	5,4
19	α D-mannosidase	5,4
20	α L-fucosidase	5,4
21	β D-xylosidase	5,4
22	phosphodiesterase	5,4
23	α D-xylosidase	5,4
24	β D-fucosidase	5,4
25	β L-fucosidase	5,4
26	N-acétyl- α D-glucosaminidase	5,4
27	lactosidase	5,4
28	arylsulphatase	5,4
29	arabinosidase	5,4
30	cellobiosidase	5,4

N°	ENZYME	pH d'utilisation
31	L-tyrosyl- β naphthylamidase	7,5
32	L-pyrrolidonyl- β naphthylamidase	7,5
33	L-phenylalanyl- β naphthylamidase	7,5
34	L-lysyl-naphthylamidase	7,5
35	L-hydroxyprolyl-naphthylamidase	7,5
36	L-histidyl-naphthylamidase	7,5
37	L-glycyl-naphthylamidase	7,5
38	α -L-aspartyl-naphthylamidase	7,5
39	L-arginyl-naphthylamidase	7,5
40	DL alanyl-naphthylamidase	7,5
41	N- γ -L-glutamyl-naphthylamidase	7,5
42	N-benzoyl-L-leucyl-naphthylamidase	7,5
43	S-benzoyl-L-cystein-naphthylamidase	7,5
44	N-glutaryl-L-phenylalanine-naphthylamidase	7,5
45	DL methionine-naphthylamidase	7,5
46	glycyl-glycine-L-naphthylamidase	7,5
47	glycyl-L-phenylalanine-naphthylamidase	7,5
48	glycyl-L-prolyl-naphthylamidase	7,5
49	L-leucyl-glycine-naphthylamidase	7,5
50	L-seryl-L-tyrosine-naphthylamidase	7,5
51	N-CBZ-L-arginine-4-methoxy- β -naphthylamidase	7,5
52	L-glutamine- β -naphthylamidase	7,5
53	L-glutamyl-naphthylamidase	7,5
54	L-isoleucine-naphthylamidase	7,5
55	L-ornithine-naphthylamidase	7,5
56	L-proline-naphthylamidase	7,5
57	L-serine-naphthylamidase	7,5
58	L-threonine-naphthylamidase	7,5
59	L-tryptophane-naphthylamidase	7,5
60	N-CBZ-glycylglycine-L-arginine- β -naphthylamidase	7,5
61	témoin NAD	8,0
62	témoin NADP	8,0
63	D-glucose-6-phosphate (NADP)	8,0
64	DL-glycerophosphate (NAD)	8,0
65	DL-isocitrate (NADP)	8,0
66	L-lactate (NAD)	8,0
67	L-malate (NAD)	8,0
68	6-phosphogluconate (NADP)	8,0
69	succinate	8,0
70	xanthine	8,0

C H A P I T R E I I I

RESULTATS OBTENUS DANS DIFFERENTS DOMAINES D'APPLICATION

Différents travaux ont déjà été réalisés avec le système API ZYM. Un résumé de ces applications prouvera l'intérêt et la fiabilité de la méthode.

Trois domaines ont déjà été explorés principalement :

- | | |
|----------------------------|------------------------|
| 1 - Enzymologie cellulaire | - cellules d'insectes |
| | - cellules cancéreuses |
| | - spermatozoïdes |

2 - Enzymologie appliquée à la Bactériologie

3 - Enzymologie appliquée à l'Industrie laitière

1 - ENZYMOLOGIE CELLULAIRE

A - Etude enzymatique de deux lignées cellulaires d'insectes (MONGET)

(*Antheraea eucalypti* et *Malacosoma disstria*)

Dans un premier temps, un profil enzymatique de chaque lignée cellulaire a été réalisé. Le tableau ci-dessous résume les activités enzymatiques discriminantes notées de 0 à 5

ENZYME	A. EUCALYPTI	M. DISSTRIA
phosphatase alcaline	5	2
leucine arylamidase	4	2
valine arylamidase	2	0
proline arylamidase	4	2
D-galactosidase	1	0
D-galactosidase	2	0
D-glucosidase	2	1
D-mannosidase	1	0
glucose-6-phosphate deshydrogénase	4	1
isocitrate deshydrogénase	2	0
6 phosphogluconate deshydrogénase	4	1

Dans un deuxième temps, la lignée *Disstria* a été contaminée par le virus NPV de *Spodoptera littoralis*. Des modifications enzymatiques ont été notées entre la souche témoin et la souche contaminée

ENZYME	M. DISSTRIA témoin	M. DISSTRIA infectée
phosphatase alcaline	2	3
leucine arylamidase	2	3
D-glucosidase	1	2
glucose-6-phosphate	1	3
6-phosphogluconate deshydrogénase	1	3

Une dernière expérience a consisté à incorporer de l'hormone juvénile aux cultures cellulaires. Cette adjonction entraîne une diminution de toutes les activités, traduisant une inhibition de la synthèse de l'ARN et des protéines.

B- Etude enzymatique comparative de trois lignées lymphoblastoïdes humaines issues de lymphomes de Burkitt et d'une lignée lymphoïde saine (NARDON, coll. 1978)

Les biopsies de lymphôme de Burkitt donnent naissance à des lignées lymphoblastoïdes. Certaines de ces lignées produisent des virions herpétoïdes de type EPSTEIN-BARR, comme la lignée HR 1K. D'autres, comme celle de RAJI, bien que possédant le génôme du virus ne produisent pas de virions. Enfin pour certaines, comme celle de NUNN, la présence du génôme n'a pu être démontrée. Comme il est pratiquement impossible d'identifier ces 3 lignées en raison de leur profonde ressemblance, si ce n'est par des techniques laborieuses et coûteuses, NARDON et collaborateurs ont essayé de les caractériser par leur profil enzymatique.

Le tableau ci-dessous résume le diagnostic différentiel des 3 lignées :

ENZYME		HR 1K	RAJI	NUNN
INCUBATION 4 h	phosphatase alcaline	0	1	3
	phosphatase acide	3	4	5
	phosphoamidase	1	2	3
INCUBATION 18 h	D et D - galactosidases	1	2	3
	L - fucosidase	1	3	2
A E T *		26	39	45

A E T *: activité enzymatique totale.

C-Etude du spermatozoïde humain et effets in vitro du chlorure de Benzalkonium

Les auteurs (MENEZO et coll. -1978-), déterminent dans un premier temps

l'activité enzymatique du spermatozoïde humain à partir de 16 spermes différents. Dans ce cas particulier 27 activités enzymatiques ont été étudiées, 17 enzymes étaient présentes et 14 hydrolases ont été décelées de façon constante; il s'agit de :

- phosphatases (acide et alcaline, phosphamidase)
- estérases non spécifiques (butyrate et caprylate)
- lipase (myristate)
- leucine et valine arylamidases (peptidases)
- trypsine (acrosine)
- α D-glucosidase
- β D-glucuronidase
- N-acétyl- β D-glucosaminidase
- α D-mannosidase
- α L-fucosidase

Ces enzymes seraient contenues dans l'acrosome. La capacitation résulterait de l'élimination enzymatique de substances adsorbées sur les spermatozoïdes. Ce dernier pénétrerait à travers le cumulus oophorus grâce à 3 enzymes (β D-glucuronidase, N-acétyl- β D-glucosaminidase et hyaluronidase).

Le chlorure de benzalkonium, inactive l'acrosine rendant impossible la pénétration dans l'oeuf. D'autre part, la glucose 6 phosphate et la 6 phospho-gluconate deshydrogénase sont inhibées privant de ce fait le spermatozoïde de sa principale source d'énergie (voie des pentoses).

Par ailleurs l'absence de β D-glucuronidase a été observée dans le sperme d'un homme stérile.

Enfin, GUERIN, MENEZO et CZYBA (1979), ont observé que la glucose-6-phosphate deshydrogénase du spermatozoïde humain est fortement inhibée par la congélation. Ceci suggère une plus grande fragilité du gamète mâle humain lors de sa conservation à basse température par rapport au spermatozoïde bovin, qui ne subit aucune modification.

2 - ENZYMOLOGIE APPLIQUEE à la BACTERIOLOGIE

A - Microtechnique pour l'identification rapide des principaux streptocoques

L'identification des streptocoques fait appel à de nombreuses techniques :

- sérologie pour la détermination du groupe (méthode de LANCEFIELD, méthode de FULLER, électrosynérèse, coagglutination).

- biochimiques pour la détermination de certains groupes (hydrolyse de l'hippurate, sensibilité à la bacitracine, résistance à des milieux hostiles) et pour l'identification d'espèces à l'intérieur de certains groupes (espèces du groupe C, espèces du groupe D) et enfin pour l'identification d'espèces n'appartenant à aucun groupe sérologique connu (*Streptococcus salivarius*, *St. mutans*, *St. mitis*).

WAITKINS (1976) a utilisé les microtests API ZYM pour leur identification. Les souches isolées sont ensuite cultivées sur un bouillon API STREP. Après 24 heures d'incubation à 37°, la culture est centrifugée. Le culot est ensuite homogénéisé dans de l'eau distillée stérile et réparti dans les galeries.

Il en ressort que chaque groupe a un profil enzymatique typique et qu'à l'intérieur de chacun des groupes il est possible de distinguer les espèces.

Tableau N° 21 : Comparaison des caractères biochimiques et des groupes sérologiques pour les Streptocoques des groupes A, B, C, D et G.

TEST BIOCHIMIQUE	GROUPE SÉROLOGIQUE A			D				G
	(24) (a)	(40)	(10)	faecalis (16)	faecium (7)	faecium var. durans (7)	bovis (10)	(17)
Hémolyse	24β (b)	40 β	9 β	3β / 13α	4β / 3α	7α	10 α	17 β
Hippurate	0	40	0	3	4	0	0	1
βGlucuronidase	12	40	10	0	0	0	0	17
Phosphatase alcaline	24	40	10	0	0	0	0	17
βGalactosidase	0	0	0	0	7	3	0	0
Pyrrolydonyl arylamidase	24	0	0	16	7	7	0	0
Glycyl-glycyl arylamidase	10	7	4	0	0	0	0	12
Esculine	1	0	2	16	7	7	10	3
Mannitol	0	0	0	16	7	0	0	0
Raffinose	0	0	0	0	0	0	10	1
Glycogène	8	0	5(c)	0	0	0	5	0

(a) : (24) nombre de souches testées

(b) : 24β nombre de souches ayant donné une hémolyse β

(c) : Les souches appartenant à l'espèce Streptococcus equisimilis ont été trouvées Glycogène négatif

D'après MONGET

B - Autres identifications bactériennes

La méthode a été appliquée pour l'identification d'autres germes.

BACILLES GRAM NEGATIFS

Aérobies stricts : Pseudomonas (GERVAIS -1976-)

Alcaligénès

Achromobacter

Anaérobies facultatifs : Entérobactéries : Escherichia

(HUMBLE et coll. -1977-)

Klebsiella

Serratia

Providencia

Proteus

(CLOPPET - 1976-)

Citrobacter freundii

(DELMAS -1977-)

Haemophilus influenzae et parainfluenzae

COCCI GRAM NEGATIFS et COCOBACILLES

Moraxella et Acinetobacter (GERVAIS 1976 - HUMBLE et coll. 1977)

Neisseria gonorrhoeae et Neisseria meningitidis (D'AMATO -1978-)

COCCI GRAM POSITIFS - (WAITKINS -1976- HUMBLE et coll. -1977-)

Les études sur les staphylocoques ont été moins prometteuses mais il est possible d'isoler le S. epidermidis par son profil estérasique (LJUNGH et NORD 1976)

BACTERIES ANAEROBIES (GUILLERMET et coll. 1977 - THARAGONNET et coll. 1977)

La méthode permet en particulier de différencier les espèces du genre Bactéroïde et Fusobactérium.

MYCOBACTERIES (YSCLA et SABATER -1976-)

La durée d'identification est réduite à 4 heures alors qu'elle demande 2 semaines si l'on a recours aux techniques traditionnelles.

LEVURES et CHAMPIGNONS (GRAFFARD 1977 - DAVID et FIASSON 1977)

Il est possible de classer les souches de levures les unes par rapport aux autres, ceci ayant une incidence dans l'industrie fromagère.

3 - ENZYMOLOGIE APPLIQUEE à l'INDUSTRIE LAITIERE (MONGET)

La pasteurisation du lait se fait par chauffage :

- soit à 63°C pendant 30 minutes (pasteurisation classique)
- soit à 80°C pendant quelques secondes
- soit de 72°C à 75°C pendant 15 secondes (pasteurisation "haute qualité")

Cette dernière méthode a l'avantage de préserver les qualités organoleptiques et la majorité des éléments nutritifs du lait.

Par arrêté du 2 Juin 1955, deux méthodes de contrôles doivent être appliquées :
- dosage de la phosphatase alcaline
- dosage de la peroxydase

Jusqu'à présent ces dosages demandaient des méthodes d'analyses complexes, alors qu'il est possible actuellement sans laboratoire de contrôler la pasteurisation. D'autre part, en raison des propriétés thermolabiles différentes de ces deux enzymes, il est très facile de distinguer les deux types de pasteurisations.

	phosphatase alcaline	peroxydase
Pasteurisation classique	détruite	détruite
Pasteurisation de "haute qualité"	détruite	active

4 - CONCLUSION

Tous ces exemples que l'on vient de citer montrent l'intérêt de la méthode, sa simplicité et sa fiabilité. Dans des domaines aussi divers, elle peut se substituer aux méthodes d'analyse classique ou du moins les compléter.

Le système peut être amélioré par une automatisation de la lecture des galeries. Un dispositif original de lecture normalisée de la réaction colorée en milieu biologique est actuellement en cours de réalisation (analyse spectrale des solutions, lecture des densités optiques, traitement du signal électrique). Une tentative de caractérisation d'entités biologiques par comparaison à un catalogue mémorisé de profils enzymatiques de référence doit être également réalisée.

C H A P I T R E I V

APPLICATIONS des MICROTTESTS en GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE

Jusqu'à présent, les microtests enzymatiques se sont appliqués à des milieux relativement homogènes (cultures cellulaires, lait) et dont les caractères étaient connus et contrôlés. Si un facteur extrinsèque intervient, il était dosé et contrôlé (hormone, Benzalkinium).

Nous nous sommes par contre intéressés dans ce travail à des liquides et tissus humains que l'on sait par définition soumis à des variations cycliques et temporelles. ~~torsque nous avons débuté nos recherches, nous ne savions pas du tout quels résultats nous allions obtenir et quelles activités enzymatiques étaient présentes.~~

Nous avons voulu réduire au maximum les manipulations préliminaires pour un dosage, afin de se mettre dans la situation d'un opérateur ne disposant pas d'un laboratoire d'analyse.

Nous avons bien sur toujours pratiqué ces tests selon le même protocole opératoire pour chaque prélèvement.

Deux domaines très différents ont été explorés :

- domaine obstétrical constitué par le liquide amniotique
- domaine gynécologique comportant l'étude de matériel cellulaire :
 - seins
 - endomètre
 - utérus
 - myomètre
 - col utérin
 - ovaires

C H A P I T R E I V

LIQUIDES AMNIOTIQUES

Nous avons limité notre étude aux liquides prélevés entre la 27e semaine et l'accouchement.

Si comme nous le verrons dans le chapitre suivant nous avons recoupé nos résultats avec une analyse histologique, pour les liquides amniotiques, nous avons du nous contenter d'éléments corroborant moins précis.

- en cours de grossesse : renseignements cliniques et analyse classique du liquide

- à terme : poids de l'enfant, examen à la naissance et pendant les premiers jours de vie

A côté de cette difficulté de superposer nos résultats avec des arguments de certitude, deux problèmes apparaissent.

1° - connaître le profil enzymatique "normal" ou du moins moyen de la grossesse aux différentes semaines de son déroulement. En effet, tous nos liquides prélevés par amniocentèse sont par définition issus d'une grossesse pathologique. Il n'est évidemment pas justifiable de pratiquer une amniocentèse sans indication médicale.

2° - La diversité des cas pathologiques et le nombre de facteurs importants pouvant, du fait de la physiologie du liquide amniotique, intervenir sur ce dernier. En effet, les hydramnios que nous avons étudiés ont une cause différente et sont dus soit à une pathologie maternelle ou foetale.

Nous avons utilisé dans presque tous les cas les 70 tests différents dont nous disposions.

Lorsque nous avons recherché les travaux réalisés sur le liquide amniotique, nous avons trouvé qu'une soixantaine d'activités différentes avaient été étudiées. Sur ce nombre une trentaine seulement figure sur notre liste. Par ailleurs les recherches antérieures ne sont jamais réalisées simultanément, par des auteurs et des techniques différents. Il en résulte que de nombreuses unités différentes sont utilisées et que les recoupements entre les divers travaux sont difficiles à établir. L'avantage de notre méthode est de toujours avoir utilisé la même technique, les mêmes conditions de réalisation et donc de pouvoir présenter des résultats cohérents.

Nous avons d'autre part analysé de nombreuses activités enzymatiques jusque là non encore explorées, en particulier dans le domaine des aminopeptidases.

Il est certain que nos résultats quantitatifs sont moins précis que ceux obtenus par d'autres méthodes, mais les variations que nous observons ne portent rarement sur une activité enzymatique, mais le plus souvent sur tout un groupe d'enzymes.

Il était possible d'étudier le contenu enzymatique du liquide amniotique de trois manières :

- analyser le liquide simplement après l'avoir débarrassé de ses composants cellulaires
- étudier ces mêmes cellules et fragments cellulaires que l'on a obtenus précédemment
- pratiquer des cultures cellulaires mais on entre dans un domaine plus complexe. Cette technique est utilisée dans la recherche des déficits enzymatiques. Elle se heurte à plusieurs difficultés :
 - * l'influence du milieu de culture sur la production enzymatique ; selon RYAN LEE et NADLER (1972), en variant le milieu, on peut obtenir le doublement de la production de glucosidase ou d'aryl-sulfatase.
 - * lorsque les cellules amniotiques sont mises en culture, elles donnent naissance à deux lignées cellulaires : l'un de type épithélial, l'autre de type fibroblastique dont les caractéristiques

biochimiques sont différentes.

* il existe des cycles cellulaires au cours desquels les activités enzymatiques varient de manière très importante ce qui peut induire des erreurs.

* enfin étant donné le peu de connaissances concernant la production enzymatique foetale, il est possible que l'existence d'isoenzymes foetales, non impliquées dans un déficit enzymatique, puisse fausser le dépistage anténatal d'une tare métabolique (MATHIEU et coll. -1973-).

Nous avons choisi d'étudier le liquide brut sans préparation initiale, estimant qu'il forme un tout et que les divers organites et cellules contenus en suspension jouent un rôle dans la production enzymatique.

Le liquide a été prélevé : - par amniocentèse au cours de la grossesse ou lors de césariennes

- par recueil direct au moment de la rupture de la poche des eaux pendant l'accouchement.

Nous avons éliminé les liquides hématiques, car l'activité enzymatique des globules rouges est très importante notamment au niveau des deshydrogénases. Le liquide, une fois recueilli, est congelé. Ainsi il peut conserver pendant un maximum de six mois ses activités enzymatiques. Une quantité de 4 cm³ est suffisante pour rechercher toutes les activités ; en effet, deux gouttes seulement sont réparties avec une micropipette Pasteur dans chaque microcuve. Nous avons fixé à 4 heures le temps d'incubation dans une étuve dont la température est de 37°C. Ce temps est réduit à 1 heure environ pour les deshydrogénases. La révélation, est comme nous l'avons décrit dans le chapitre II, consiste à ajouter deux gouttes de solution Fast blue BB.

Reste le problème de l'origine enzymatique. Elle est multiple :

- il semble que le sérum maternel joue un rôle très important. Il est admis communément, qu'au dessus d'un poids moléculaire

de 170 000, les enzymes ne pourraient passer dans le liquide amniotique. Ceci n'est pas entièrement exact; il vaut mieux dire qu'au dessus d'un poids moléculaire de 170 000, aucun passage enzymatique n'a pu être mis en évidence.

- une seconde source est constituée par le foetus lui-même grâce à sa peau, par son arbre respiratoire et par ses tractus urinaires et intestinaux

- le placenta, l'amnios et le chorion sont aussi vraisemblablement un lieu de production.

Tous les auteurs ne sont pas du même avis sur l'origine de telle ou telle enzyme. Cela ne signifie-t-il pas simplement que les enzymes ont des origines multiples et diverses.

DESHYDROGENASES

Les deshydrogénases jouent un rôle important dans l'énergie cellulaire. Elles transfèrent l'hydrogène d'un donneur spécifique sur un accepteur, obligatoirement différent de l'oxygène moléculaire. Cet accepteur est le plus souvent, soit la nicotinamide adénine dinucléotide (coenzyme I : NAD, ancienne nomenclature : DNP), soit le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (Coenzyme II, : NADP, TNP).

Dans la matière vivante, l'ensemble "substrat-deshydrogénase liée au NAD ou NADP" fonctionne en liaison étroite avec un autre système enzymatique, transférant l'hydrogène du coenzyme réduit sur un autre accepteur, la deuxième enzyme étant désignée sous le nom de diaphorase à NAD ou NADP.

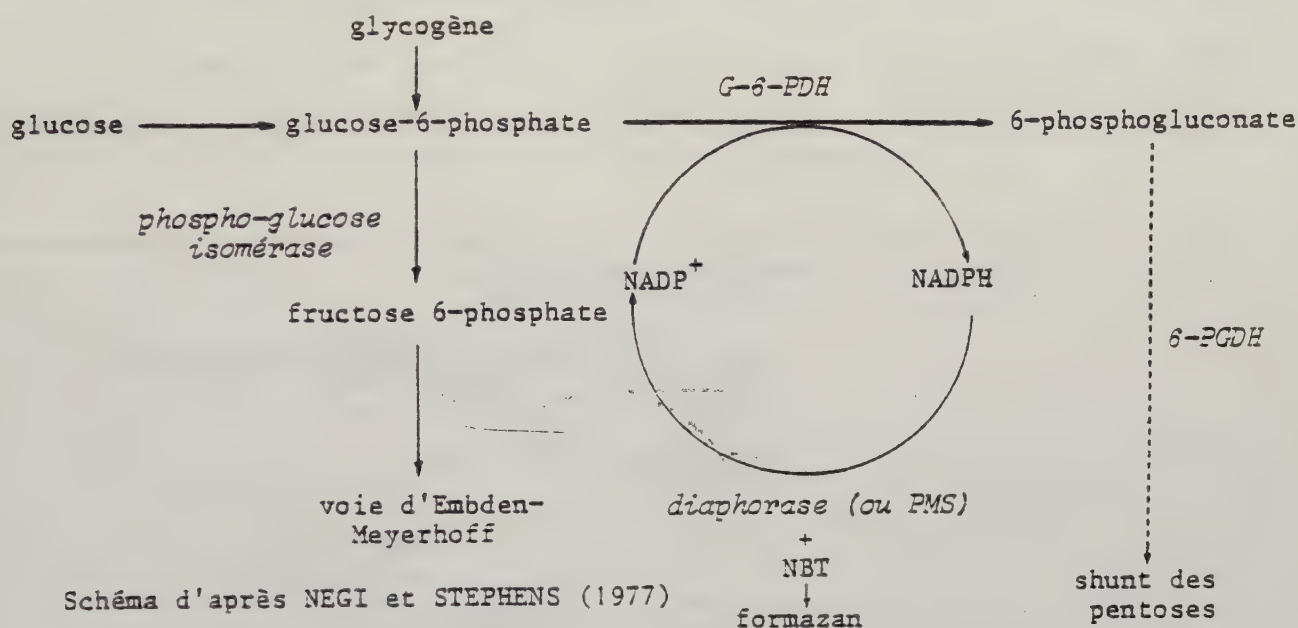


	Substrat	Enzyme	Coenzyme	p H
61	-	témoin	NAD	8,0
62	-	témoin	NADP	"
63	D-glucose-6-phosphate	glucose-6-phosphate deshydrogénase	NADP	"
64	DL-glycerophosphate	α -glycérophosphate deshydrogénase	NAD	"
65	DL-isocitrate	isocitrate deshydrogénase	NADP	"
66	L-lactate	lactate deshydrogénase	NAD	"
67	L-malate	malate deshydrogénase	NAD	"
68	6-phosphogluconate	6-phosphogluconate deshydrogénase	NADP	"
69	succinate	succino-deshydrogénase	-	"
70	xanthine	xanthine oxydase (xanthine deshydrogénase)	-	"

Liste des caractères "deshydrogénases"

1 - GLUCOSE-6-PHOSPHATE DESHYDROGENASE

La glucose-6-phosphate deshydrogénase et la 6-phospho-gluconate deshydrogénase que nous étudierons ensuite, appartiennent au shunt des hexoses-monophosphate (voie des pentoses). La G-6-PDH joue un rôle physiologique clef en orientant vers le cycle des pentoses le métabolisme du glucose-6-phosphate, qui, en l'absence de cette enzyme, est normalement transformé par voie glycolytique. La G-6-PDH exerce ainsi un contrôle considérable sur la synthèse des pentoses qui sont des constituants importants des acides nucléiques et de certains coenzymes, tels que le NAD et le coenzyme A



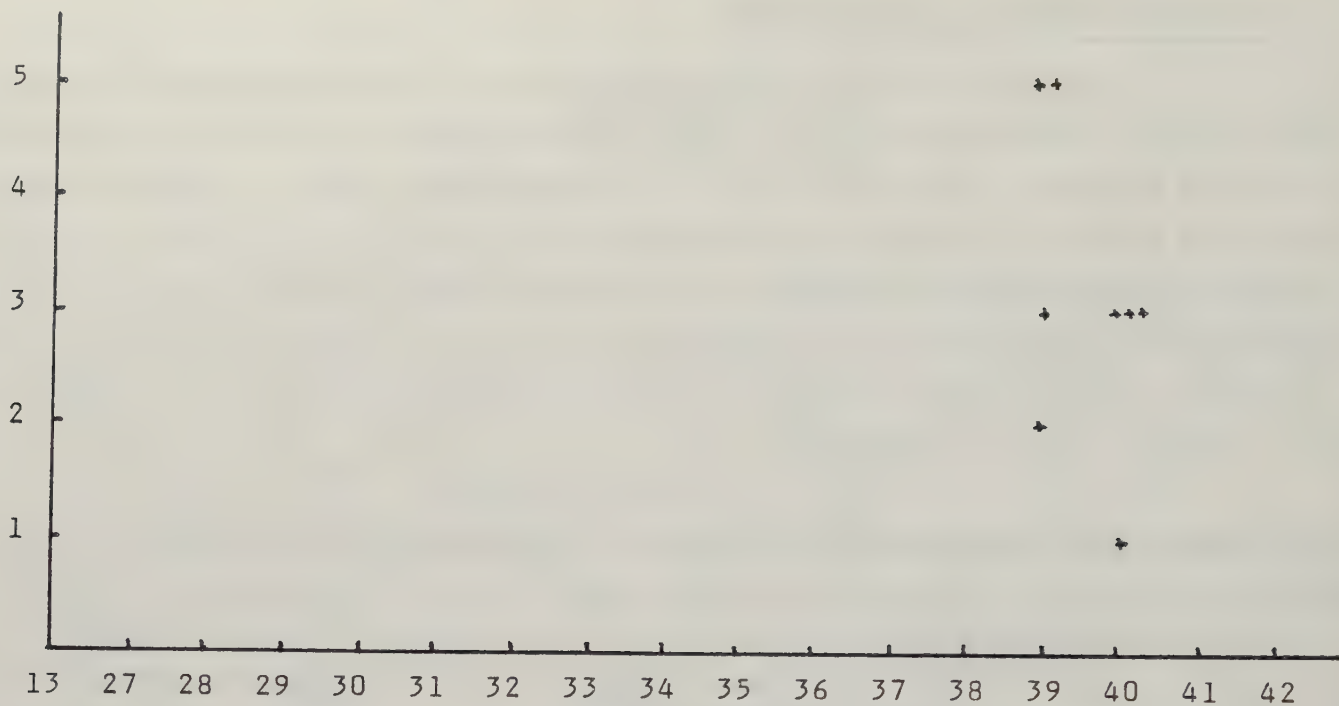
La glucose-6-phosphate est présente à l'état de traces dans le liquide amniotique pour GEYER, et absente dans l'épithélium amniotique.

Les taux les plus importants que nous avons trouvés provenaient de liquides recueillis intrapartum et jamais lors d'amniocentèse même tardive, sauf en cas d'anencéphalie.

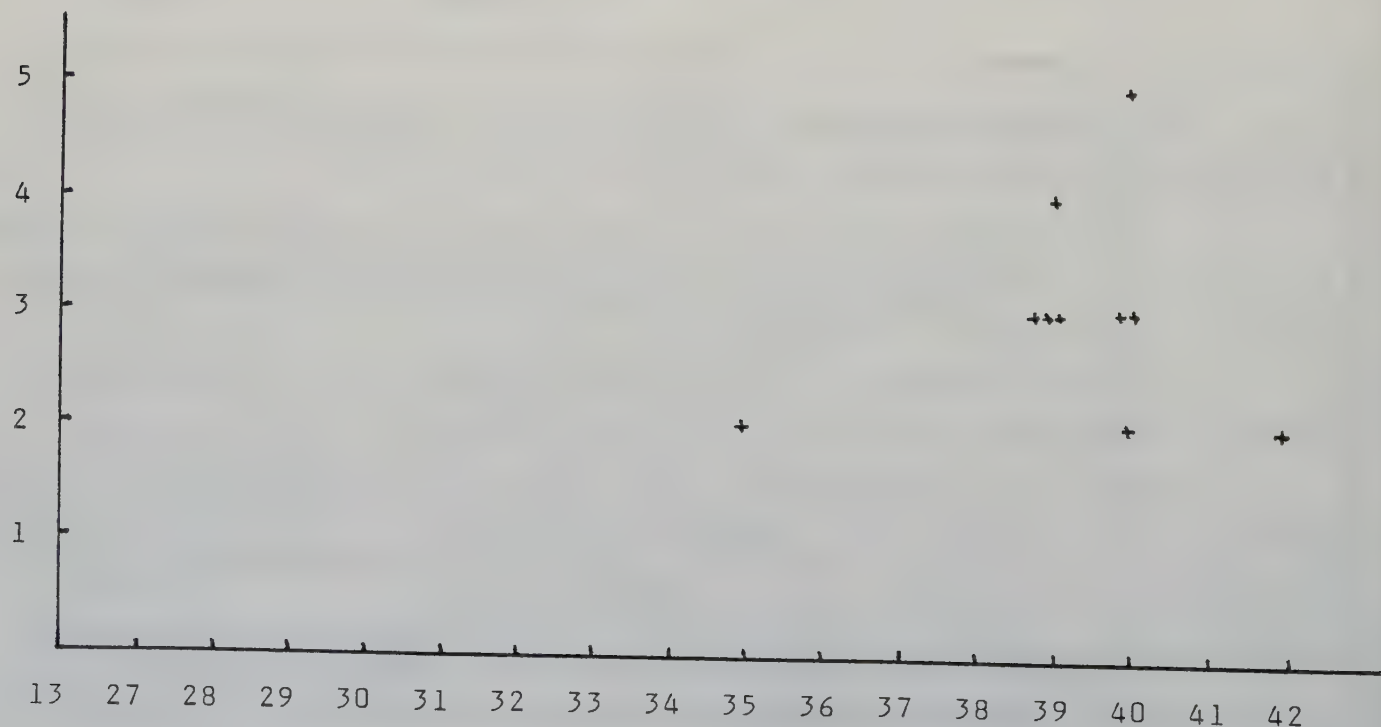
La mort foetale ne semble pas entraîner une augmentation des taux, de même que la souffrance foetale aigue ou chronique.

Sa présence en quantité importante dans les hématies peut faire penser à leur passage dans le liquide amniotique au moment de la rupture, mais dans deux liquides hématiques prélevés par amniocentèse, nous ne trouvons pas d'activité.

Il semble bien se produire donc une augmentation importante intra-partum, ceci peut être pour produire du NADP réduit nécessaire à de nombreuses synthèses.



D-GLUCOSE-6-PHOSPHATE-DESHYDROGENASE



6-PHOSPHO-GLUCONATE-DESHYDROGENASE

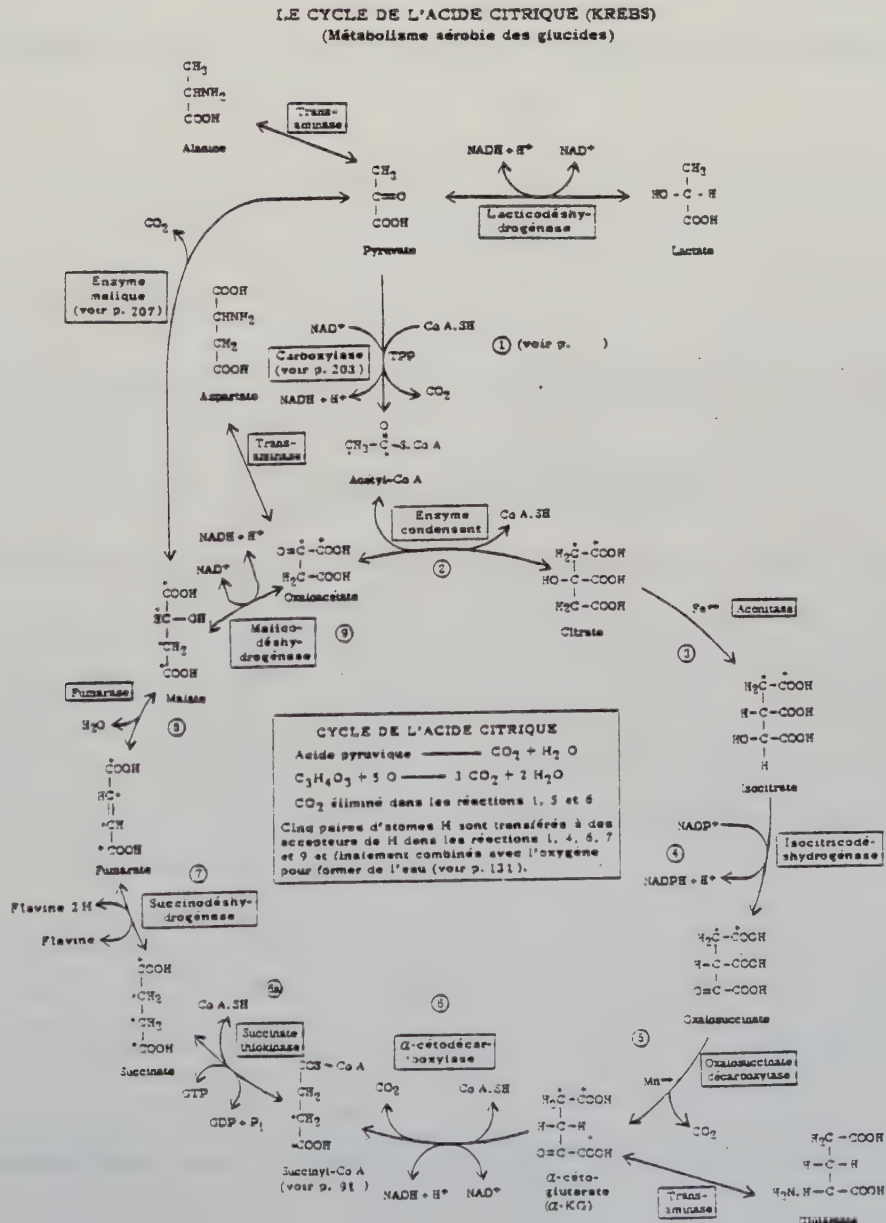
2 - 6-PHOSPHO-GLUCONATE DESHYDROGENASE

Comme la glucose-6-phosphate deshydrogénase elle augmente au moment de l'accouchement et se trouve toujours associée avec elle, sauf dans deux cas : - celui d'un anencéphale où seule la G-6-PDH est présente

- celui d'une grossesse de 34 semaines où seule la 6-PGDH est présente (à noter que la patiente a reçu une cure de Betnesol ; le taux, une semaine avant, était négatif).

Il semble donc que cette voie des pentoses soit préférentielle au moment de l'accouchement, alors que la voie glycolytique d'Embden Meyerhof est mise en évidence pendant la grossesse.

201



3 - LACTATE DESHYDROGENASE (LDH)

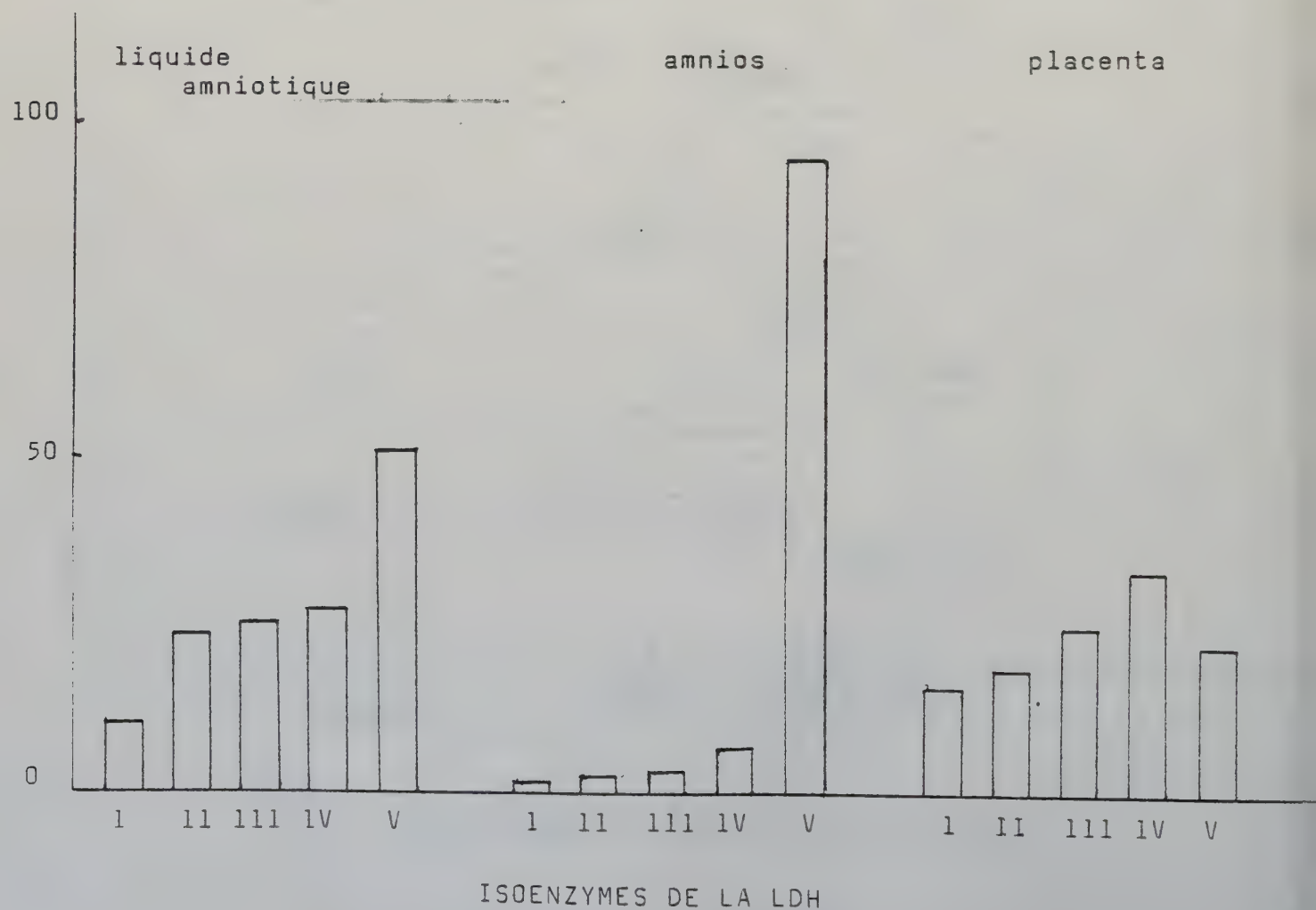
La lactate deshydrogénase joue un rôle clef dans la glycolyse anaérobie (voie d'Embden Meyerhof). Elle catalyse la transformation du lactate en pyruvate. Ce dernier rentre ensuite dans le cycle de Krebs.



Son origine est multiple

- placentaire (BASTIDE, BAUDON, DASTUGUE et coll. -1960-)
- foetale (SANTONI -1958-); elle serait due à une glycolyse importante propre aux tissus foetaux
- amniotique (KRAUZ et coll. -1968-)

On connaît actuellement cinq isoenzymes de la LDH (DOBRYSZYCKA et coll. -1977)



Comparaison taux maternels et foetaux

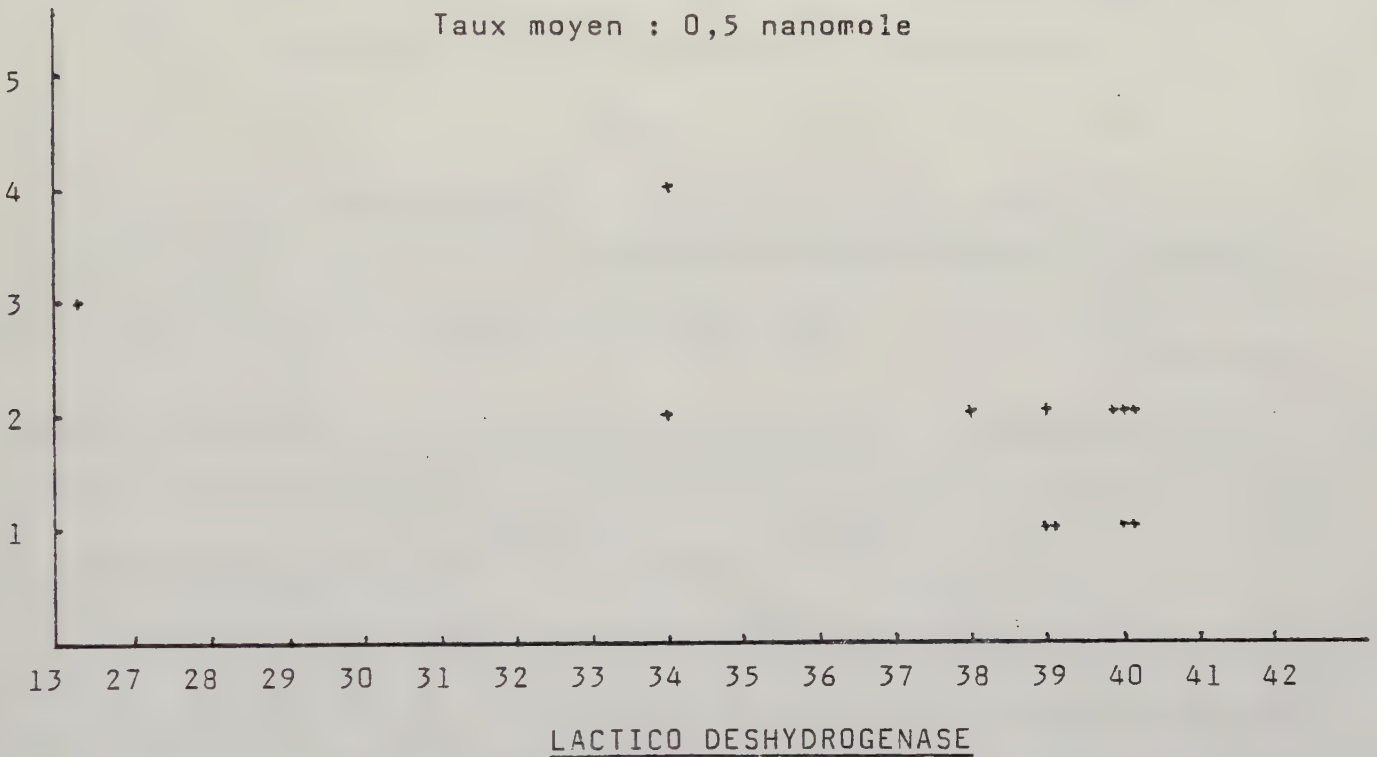
Pour ANTONIONI et coll. (1957), SANTONI (1958), KUBLI (1961) et LAPAN (1962) le taux du liquide amniotique serait supérieur à celui du sérum maternel.

PARTENSKI (1960), PLENTL (1966) et BONSNE (1966) arrivent aux conclusions contraires.

Taux : ZELNICEK et TOVAREK (1961) : 28,90 moles/ml/heure

GEYER (1970) : 238,9 mU/ml

GALERNE : 4 μ moles/ 10^{-2} /ml



Nous n'avons pas trouvé de LDH dans tous les liquides amniotiques

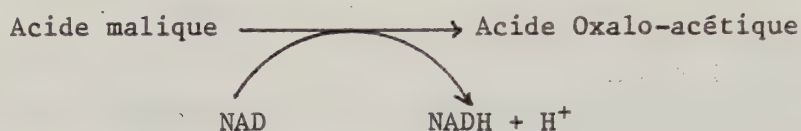
Les taux les plus élevés ont été notés dans deux grossesses arrêtées (supérieurs à 30 nanomoles) et dans un cas d'anencéphalie. En dehors du travail, quand elle est présente, elle est la seule activité deshydrogénasique, ainsi que lors de césarienne. Au moment de l'accouchement, elle semble diminuer pour être remplacée, comme on l'a vu, par les enzymes de la voie des pentoses.

Contrairement à WOYTON (1969), il ne semble pas y avoir d'augmentation ni en cas de post-maturité, ni en cas d'iso-immunisation (THORRHINA et coll. -1969-).

La présence de méconium ne modifie pas les taux puisque nous en avons trouvé inconstamment dans les liquides méconiaux et jamais dans le méconium pur.

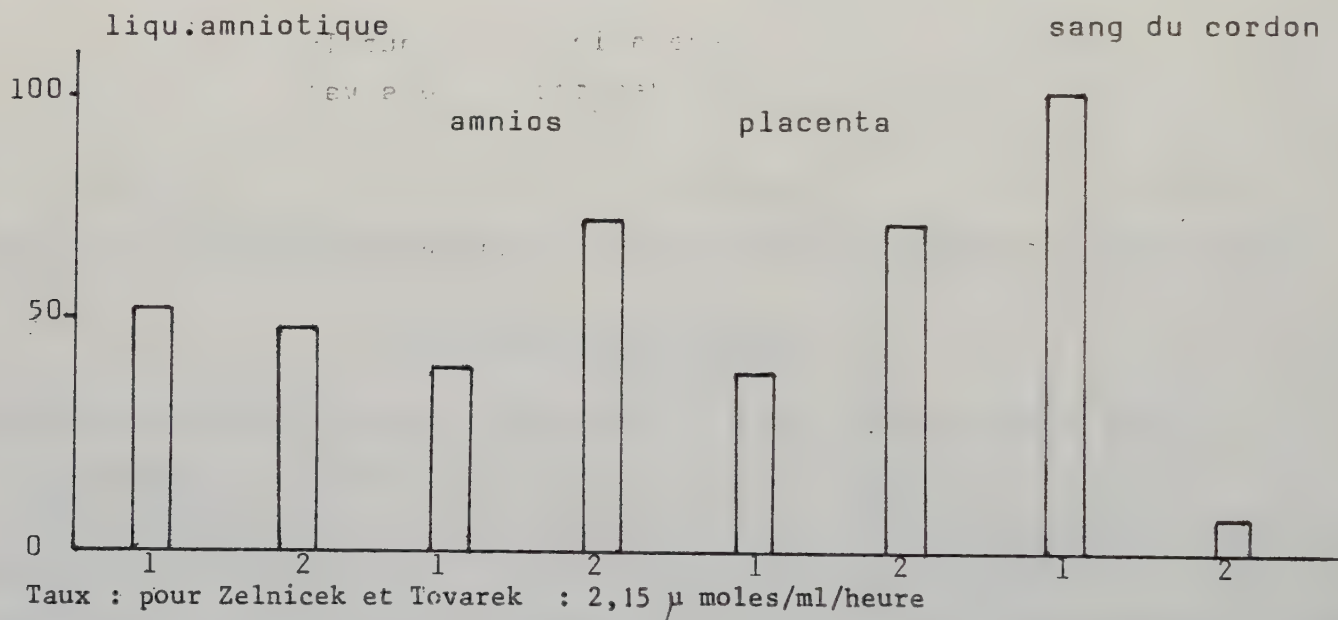
A notre avis, la présence de LDH est trop inconstante pour avoir une signification sauf en cas de mort foetale où elle serait nettement augmentée.

4 - MALATE DESHYDROGENASE (MDH cyle de Krebs)



Son origine se situerait soit dans l'épithélium amniotique, soit proviendrait de cellules foetales désagrégées.

Deux isoenzymes ont été isolés par Van Geyer à des taux différents selon leur origine.



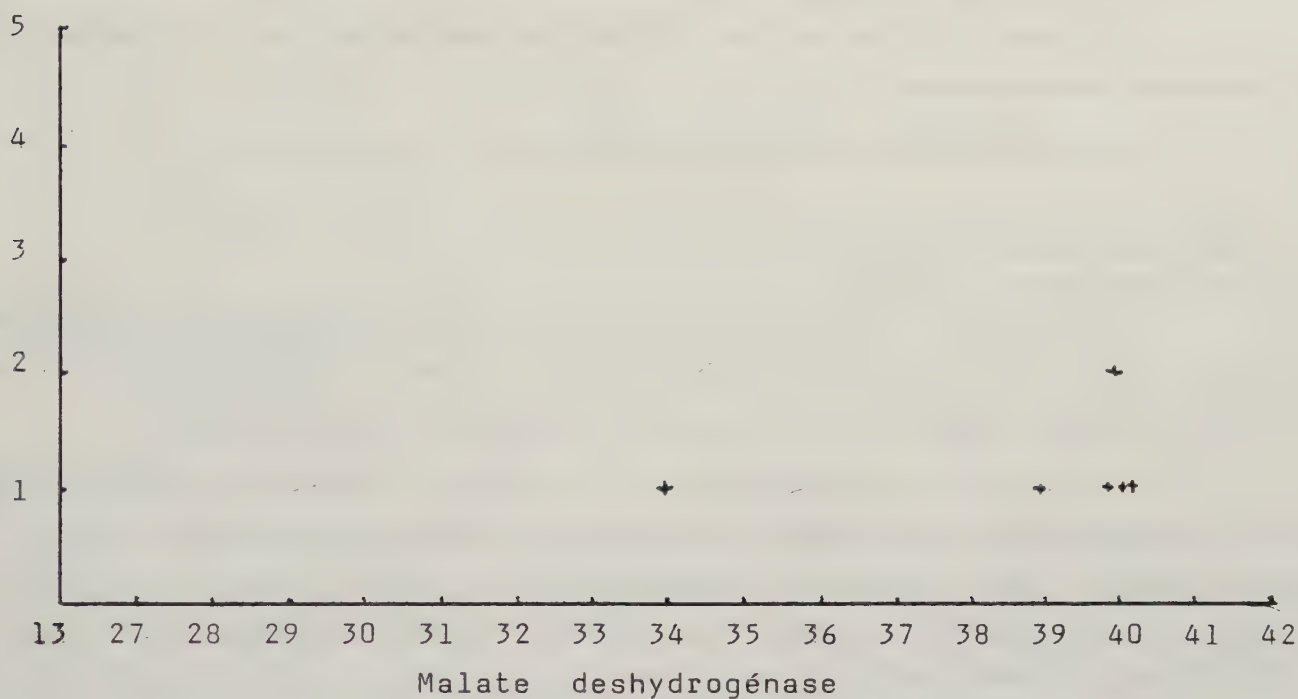
Peu de liquides contiennent de la MDH. A part deux liquides provenant d'accouchements normaux, la MDH n'est présente que dans des liquides pathologiques : - liquides méconiaux

- anencéphalie

- mort foetale

Ceci semble confirmer les études de GEYER-70 (augmentation en cas

Taux moyen: 0,2 nanomole



de liquides anormaux), mais à notre avis comme pour la MDH, notre méthode n'est pas assez précise pour tirer des conclusions valables.

5 - DESHYDROGENASE SUCCINIQUE (cycle de Krebs)

Catalyse la transformation de l'acide succinique en acide fumarique.

Elle est trouvée à l'état de traces dans l'épithélium amniotique par Krauze qui ne note aucune variation pendant la grossesse.

Aucune activité n'a été trouvée dans nos liquides.

6 - DESHYDROGENASE ISOCITRIQUE (ICDH cycle de Krebs)

Catalyse la transformation d'acide isocitrique en acide oxalo-succinique.

LITTLE (1962) note des taux bas dans les liquides clairs, et de toute façon inférieurs aux taux maternels.

Taux 93 unités en moyenne.

Le seul cas où nous en avons trouvé est celui d'une mort foetale à 32 semaines, ce qui semble être donc un signe d'extrême gravité.

7 - DL GLYCEROPHOSPHATE DESHYDROGENASE

Elle dévie la glycolyse vers la synthèse des acides gras en réduisant la dihydroxyacétone-phosphate.

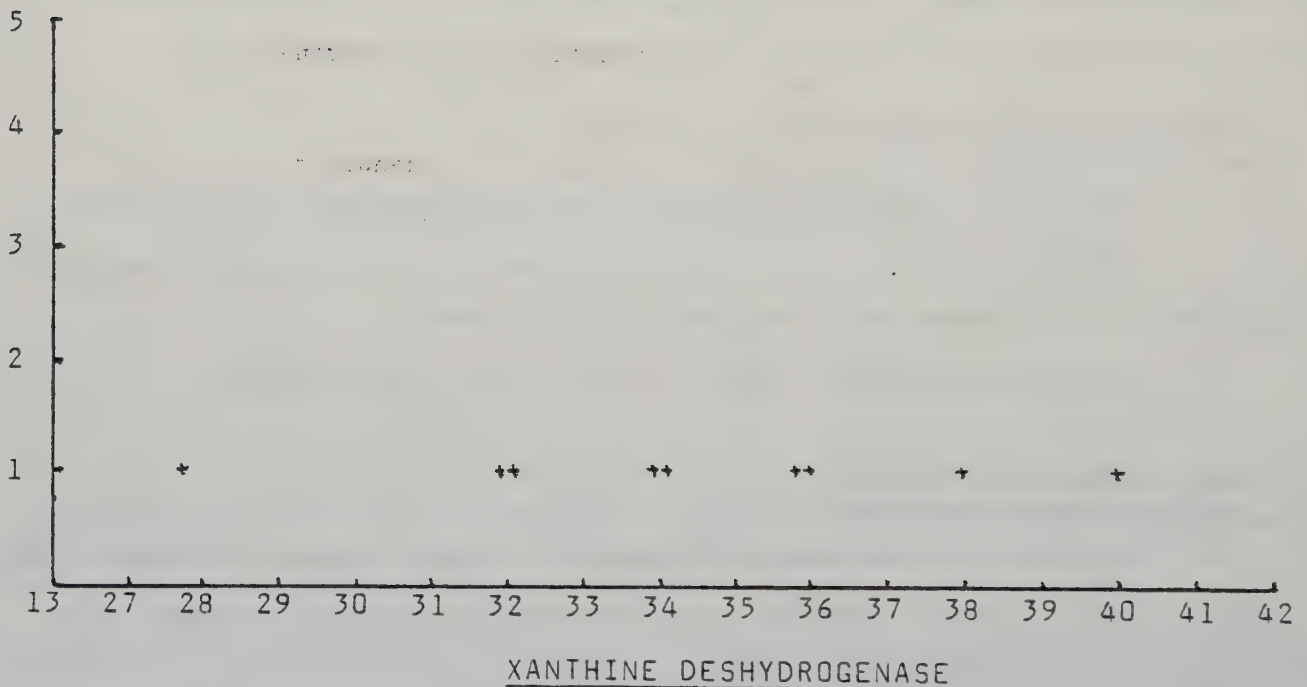
Aucune activité n'est notée pendant la grossesse.

8 - XANTHINE DESHYDROGENASE

Son rôle principal est d'oxyder l'hypoxanthine et la xanthine acide urique ; elle oxyde également les aldéhydes, les ptérines et les purines.

Tous les taux rencontrés sont faibles, constants et toujours lors d'amniocentèse. Mais la diversité des pathologies gravidiques ne permet pas de tirer des conclusions.

Taux moyen : 0,1 nanomole



9 - HYDROXY-STEROÏDES

KAY HART (1966) a mis en évidence dans le placenta à partir de la 6e semaine

et jusqu'à terme les deshydrogénases suivantes :

- 3
- 3
- 6
- 11 hydroxy stéroïdes deshydrogénase
- 16
- 17

10 - MONO-AMINOXYDASE

Elle catalyse la désamination oxydative des catécholamines et de la sérotonine.

Son origine serait placentaire et son rôle serait de protéger le placenta et le fœtus contre l'action des catécholamines maternelles: elle inhiberait ainsi leur action vaso-constrictive et empêcherait l'induction de contractions utérines. Le taux serait important dans le liquide amniotique selon BRZEZENSKI et coll. (1962).

11 - DAO - DIAMINE-OXYDASE ou HISTAMINASE

Elle produit une désamination oxydative de l'histamine et la transforme en acide imidazol-acétique.

Il n'en existe pas dans le sérum maternel en dehors de la grossesse. Elle y apparaît dès le début de la gestation ainsi que dans la caduque utérine puis ensuite dans le liquide amniotique. Son taux se maintient pendant toute la grossesse et disparaît dans la 1ère semaine du post partum.

Le fœtus produirait de l'histamine considéré par certains comme un facteur de croissance. La DAO qui est absente chez le fœtus dégraderait cette histamine et serait un bon reflet de la vitalité foetale, notamment dans les iso-immunisations Rhésus où elle serait augmentée.

Son taux est selon Tornquist plus bas dans le liquide amniotique que dans le sérum maternel durant le 2e trimestre, alors qu'à terme les taux sont équivalents.

SCHUMACHER et coll. (1976) ont mis au point une technique de dosage utilisant la putrescine marquée au carbone 14 comme substrat.

Cette technique est maintenant utilisée dans le diagnostic de rupture prématurée des membranes, bien que les résultats soient difficilement interprétables en cas de simple fissure.

12 - NADH 2 REDUCTASE (Diaphorase)

A été dosée par KRAUZE (1968) dans l'épithélium amniotique, il trouve des taux élevés dans la deuxième moitié de la grossesse.

13 - PHENYLENE-DIAMINE-OXYDASE

Il y a une augmentation dans le sérum des femmes enceintes par rapport au sérum normal (SANTONI -1958-). Cette élévation serait due à une haute teneur en céruloplasmine de l'organisme maternel. Inversement, la faible synthèse de céruloplasmine par le fœtus expliquerait les taux bas trouvés dans le liquide amniotique.

TRANSFERASES

I - TRANSAMINASES

Transaminase glutamo-oxalo acétique et glutamo-pyruvique.

Elles catalysent le transfert d'un groupe NH₂ d'un acide aminé sur un acide cétonique.

A - G O T

Son taux est inférieur dans le liquide amniotique par rapport au sérum maternel et sang du cordon.

Lors de souffrance foetale, que le liquide soit méconial ou pas, son activité serait augmentée (GALERNE et COLL -1972-). Pour d'autres (FIOCCHI et ONETTI -1960-), elle n'aurait pas de rôle dans le liquide amniotique et serait même absente en cas d'hydramnios.

Taux : GEYER : 8,6 - 3,8 mU ml pendant le 3e trimestre, sans modification en cas de pathologie.

GALERNE : 8 à 12 mUI

B - T G P

Toujours trouvé à l'état de traces et sans modification dans les liquides anormaux

Taux : 1,6 - 0,9 mU par GEYER

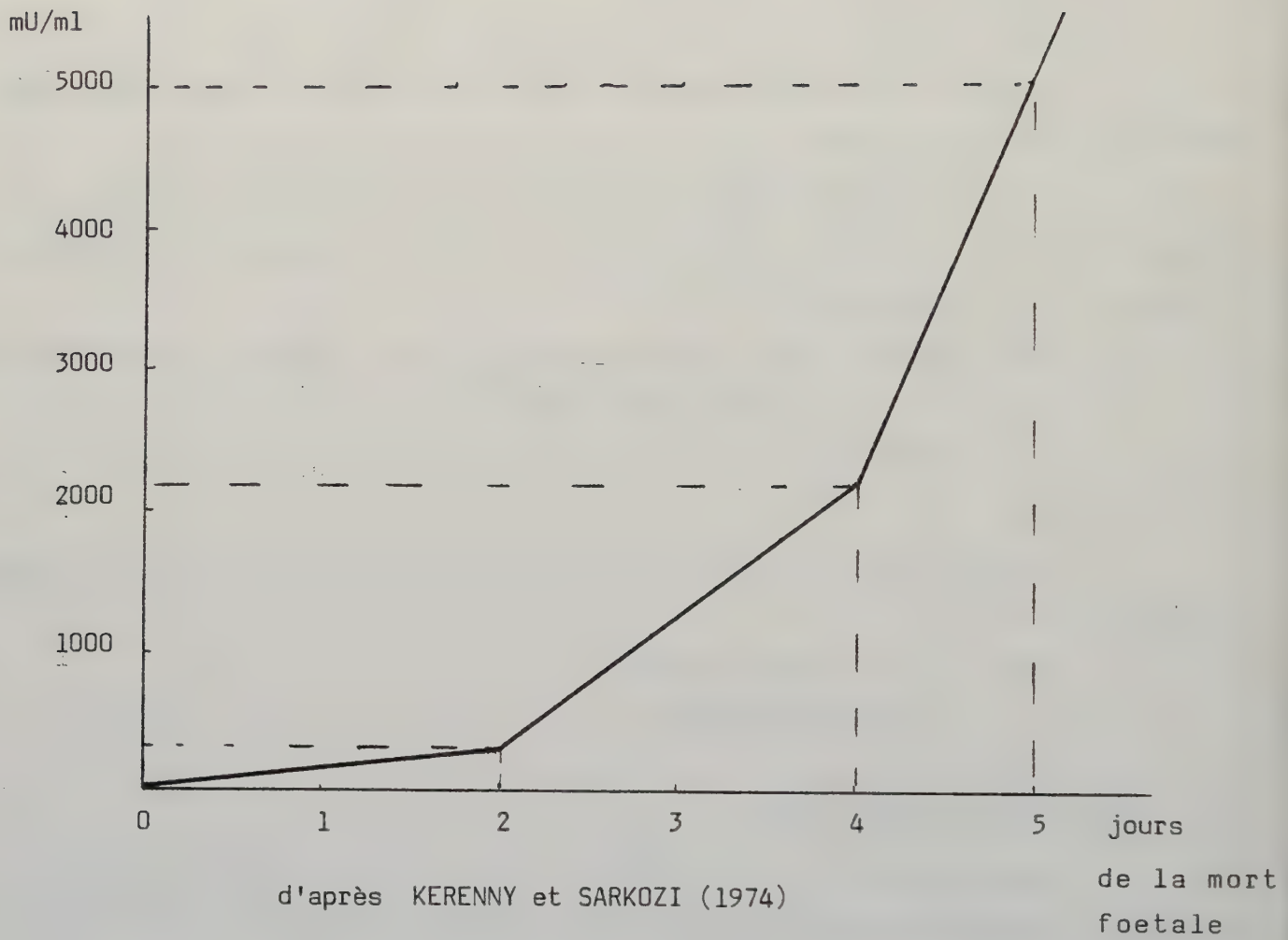
1,5 à 3 mUI GALERNE

II - CREATININE-PHOSPHO-KINASE

Taux faibles en cas de grossesse normale, mais considérée par KERENNY et SARKOZI (1974) comme un signe de mort foetale fiable. Ils ont établi une courbe en fonction du nombre de jours suivant l'arrêt de la grossesse.

Cette élévation serait en rapport avec la décomposition des tissus foetaux. Par contre le taux maternel reste stable, prouvant que la CPK ne passe

pas à travers les membranes.



HYDROLASES

I - TRIBUTYRINASES

Soit les auteurs en ont trouvé des traces (CACCIARI et Coll. -1959-), soit ils ont montré qu'il n'existait aucune activité tributyrinasique dans le liquide amniotique. (LAPAN et coll. -1962-).

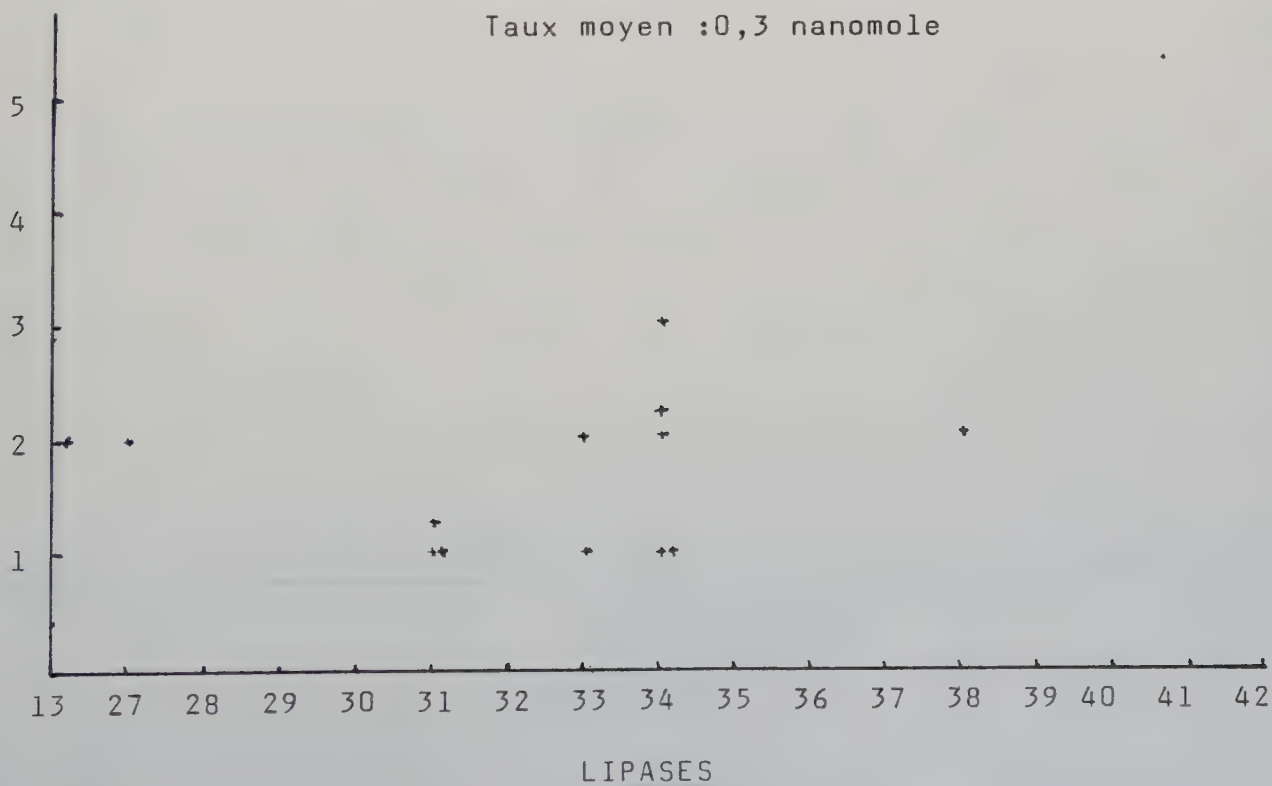
II - LIPASES et ESTERASES

Ces enzymes hydrolysent les esters carboxyliques ; la limite entre lipases et estérases reste floue. IL est généralement admis que la chaîne aliphatique de l'ester doit comporter au minimum 14 carbones pour que l'hydrolyse soit spécifique d'une activité lipasique.

A - LIPASES

Selon les auteurs le liquide amniotique ne contient que des traces ou est absent. (GARNIER 1903 - CANDIANI 1958).

Nous n'en avons pas rencontré dans tous les liquides amniotiques (12/66).



Nous trouvons une activité depuis la 13^e semaine avec un pic de fréquence à la 34^e semaine et une disparition brutale ensuite. Le seul taux positif après la 34^e est trouvé à la 38^e semaine, mais dans ce cas le terme était douteux (L/S 1, créatinine 102). Le taux maxima est rencontré à la 34^e semaine chez une femme diabétique.

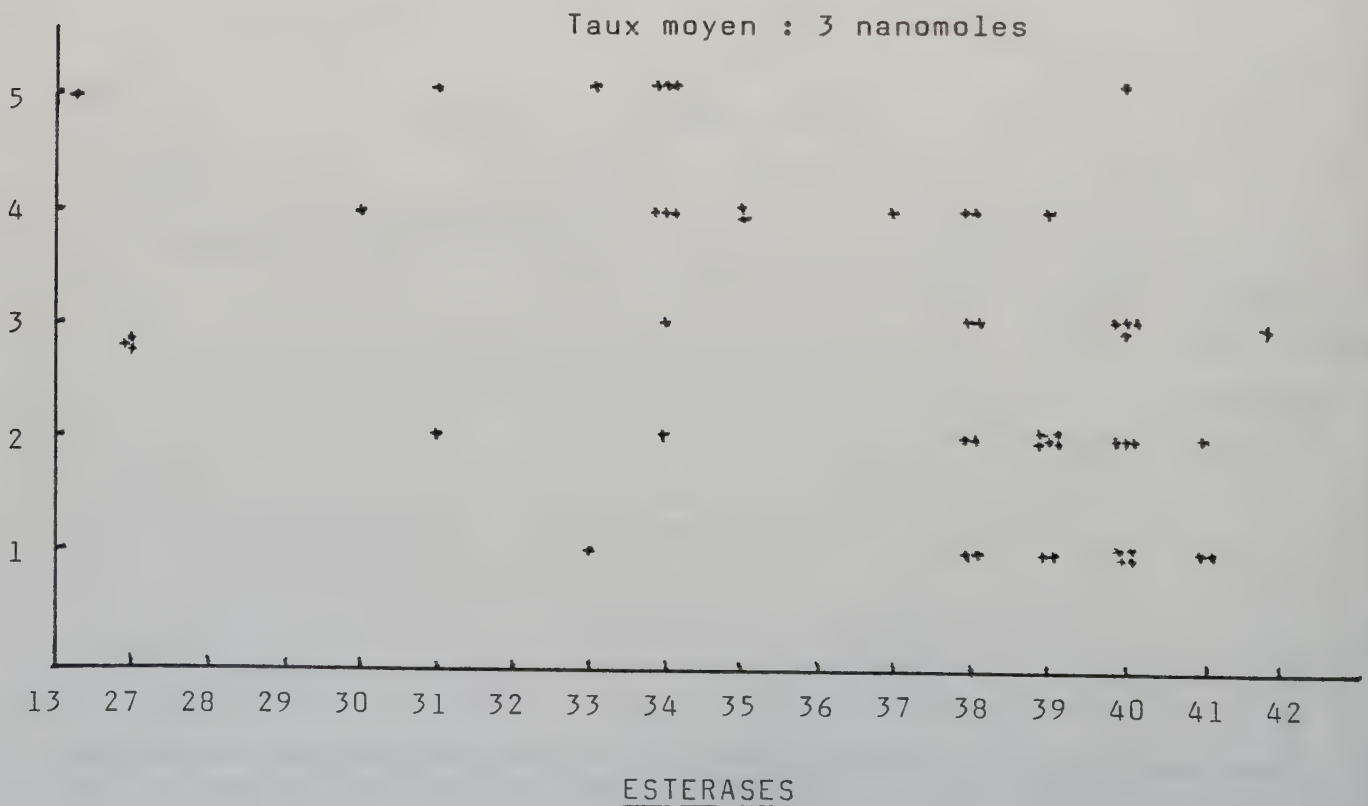
Il semblerait donc peut être possible de trouver avec le dosage de la lipase un indicateur de l'âge gestationnel : un taux positif serait signe d'une grossesse de 34 semaines maximum.

B - ESTERASES

Selon MANDEBAUM et EVANS (1969) le taux augmente au cours de la grossesse normale et diminue brutalement en cas de mort foetale.

L'activité estérasique que nous dosons n'est pas très spécifique

Nos résultats sont contradictoires avec ceux des auteurs précédents. Elle est présente dans tous nos prélèvements. Son taux s'élèverait rapidement pour atteindre un maximum à la 34^e semaine, redescendre progressivement jusqu'à la 38^e semaine et ensuite assez rapidement.



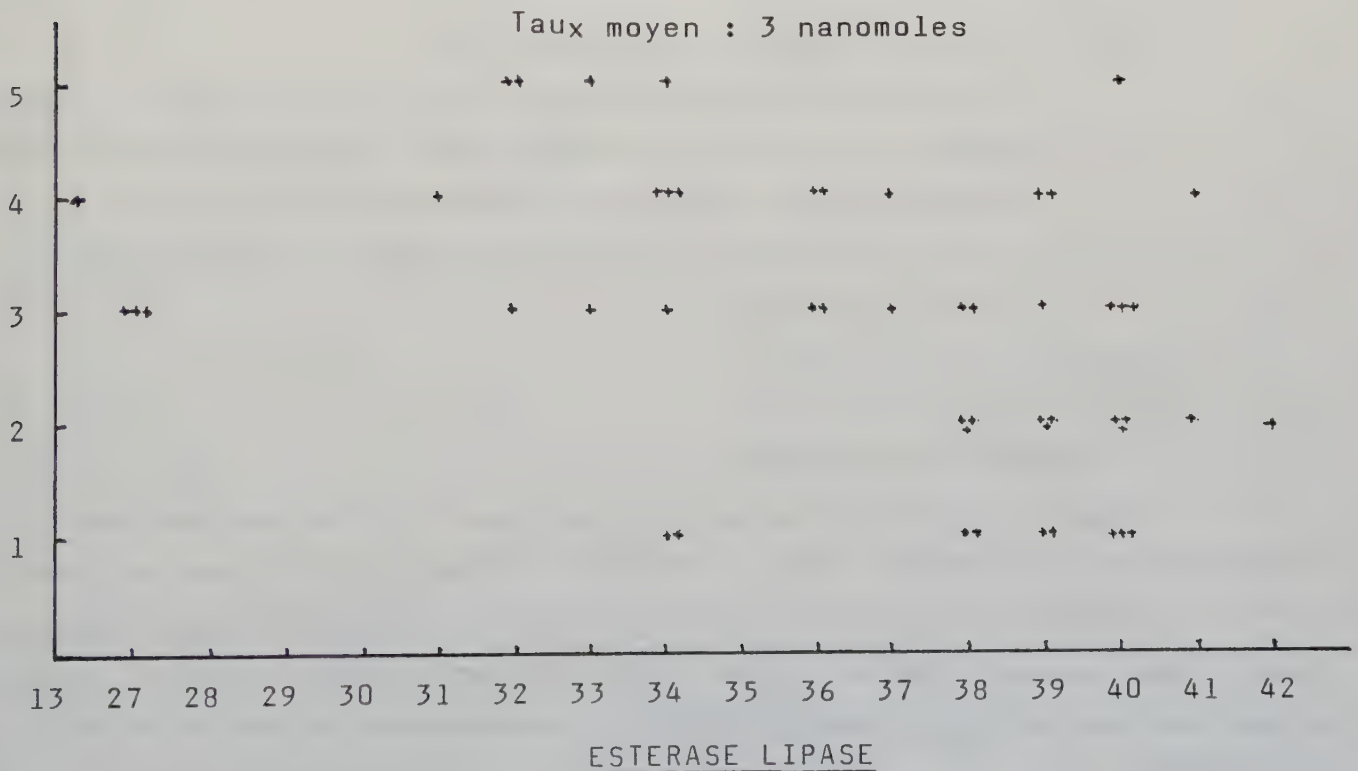
Le seul taux élevé à la 40e semaine a été trouvé dans le liquide d'un polymalformé. La mort foetale ou la présence de méconium ne modifie pas les taux. Ceci ne peut être expliqué que par la présence d'un facteur inhibiteur dans le liquide amniotique (l'activité dans le méconium pur étant assez élevé).

Comme pour la lipase, une orientation sur le terme pourrait être trouvé dans le dosage de l'activité estérasique.

C - ESTERASE LIPASE

Elle est présente dans tous les liquides amniotiques. Les taux montrent aussi une activité maximale vers la 34e semaine et une diminution par la suite, mais de manière moins nette que pour l'estérase et la lipase.

Là aussi, le taux nettement supérieur à la 40e semaine est trouvé chez l'enfant polymalformé (à noter qu'en cas d'anencéphalie, les diverses activités lipase, estérase, estérase lipase sont très faibles).



Le taux très élevé à la 38^e semaine est celui du liquide ayant déjà une activité lipasique importante.

Les taux bas à la 34^e semaine ont été trouvés :

- lors d'un accouchement prématuré
- chez un mort né

Il existe donc une certaine corrélation entre lipase, estérase et estérase lipase pour ce qui est de l'évolution des taux pendant la grossesse.

D - CHOLINESTERASE

Hydrolyse les esters de la choline.

Dans le liquide amniotique le taux est faible (PALAN et Coll. -1962-) $0,20 \pm 0,03$ U ; pour IMBAR (1966), le taux est 250 fois supérieur dans le sérum maternel.

Pour WOYTON (1969) il y aurait chute de la cholinestérase en cas d'hypoxie, ce qui n'est pas retrouvé par GALERNE dont le taux est 51,5 mU/ml).

III - PHOSPHATASES

On peut distinguer deux types de phosphatases :

- les phosphatases dites "non spécifiques" qui catalysent le clivage hydrolytique des esters phosphoriques et sont spécifiques seulement du mode de liaison comme les phosphatases alcaline et acide.
- les phosphatases dites "spécifiques" comme la 5-nucléotidase, la glucose-6-phosphatase ...

1 - PHOSPHATASES NON SPECIFIQUES

A - Phosphatase alcaline

Durant la grossesse, les phosphatases jouent un rôle important dans l'élaboration de l'organisme foetal, notamment au niveau du métabolisme calcique.

De nombreux travaux ont été consacrés à la phosphatase alcaline depuis 1935 dans le sérum maternel (CAYLA et FABRE -1935-) (DUMONT et BERGER -1948-) ... Tous les auteurs montrent qu'il y a augmentation de la phosphatasémie surtout autour du 3^e trimestre.

Inversement, PAYSANT (1969) pense que les taux sont élevés dans les immunisations.

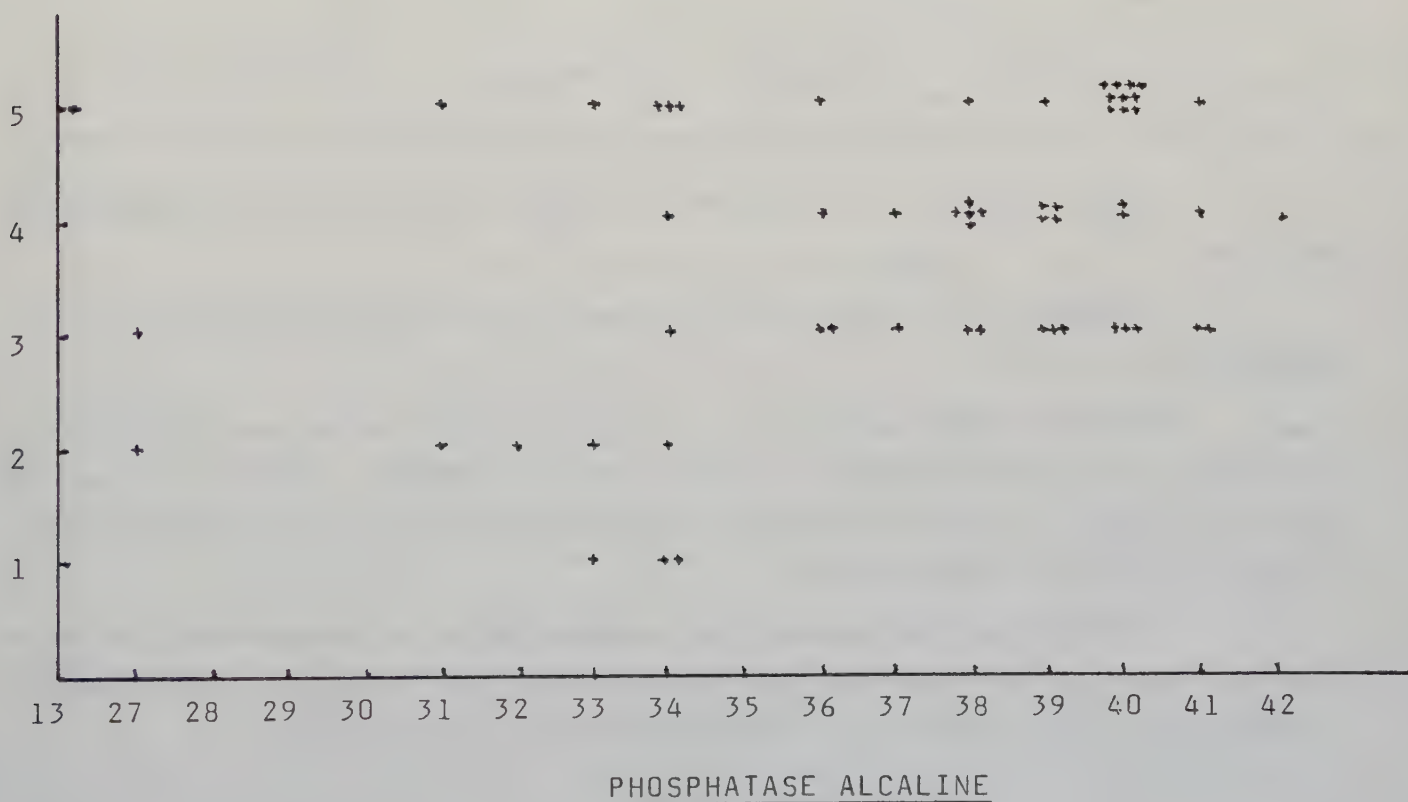
KELLEN (1970) établit alors qu'il existe 2 phosphatases alcalines différentes

- l'une thermostable qui aurait pour origine le placenta. Son taux augmenterait rapidement à partir de la 30e semaine. GILLET (1971) étudia la phosphatase alcaline thermostable dans des grossesses pathologiques et pense qu'elle reflète la fonction placentaire.

- l'autre thermolabile dont l'origine serait le revêtement cutané et le tractus urogénital. Selon HAHNEMANN et SORENSEN (1974) cette isoenzyme aurait un pic maximal à la 15e semaine et un autre à la 35e semaine. GALERNE fixe un taux de 25 à 40 mU/ml au cours du 3e trimestre et confirme qu'en présence du méconium l'activité peut être 10 fois supérieure à celle des liquides clairs.

DALHQUIST et LINBERG trouvent une activité supérieure dans le gros intestin que dans l'intestin grêle ; EGGERMONT constate qu'il y a augmentation du taux de phosphatase alcaline dans le méconium au cours de la grossesse.

Taux moyen : 3,8 nanomoles



En 1952 SEELICH et COMOLKA comparèrent les taux de la phosphatase alcaline entre liquide amniotique et sérum : l'activité est multipliée par 35 dans le liquide amniotique.

ASCENCIO BRETONES et VALVERDE (1956) étudiant le liquide amniotique et méconium trouvent des valeurs phosphatasiques alcalines 8089 fois supérieures à celui du sérum. Ceci expliquerait les taux élevés dans les liquides méconiaux et par conséquent ont envisagé une possibilité de diagnostic des souffrances fœtales.

Valeurs de la phosphatase alcaline dans le liquide amniotique (en Unités KING AMSTRONG) (A. BRETONES et VALVERDE)	
<u>Liquide pur</u>	<u>Liquide avec méconium</u>
7,3	660
8,3	282
9,5	521
8,8	398
3,1	691
6,6	702
5,8	609
Moyenne... 7,3/100 ml	Moyenne ... 552/100 ml

JUNG et DIEM en 1958 confirment l'origine intestinale de la phosphatase alcaline.

MISCHEL en 1960, quant à lui, retient une origine placentaire de la phosphatase alcaline.

LAPAN en 1962 compare le taux de phosphatase alcaline dans le liquide amniotique et le sérum maternel. Il trouve que contrairement à SEELICH, le taux est plus faible dans le liquide amniotique et prouve d'autre part que l'enzyme ne peut franchir la barrière placentaire.

KARCHMER en 1968 constate une augmentation de la phosphatase alcaline en cas de diabète et une diminution lors d'iso-immunisation rhésus ou de malformation congénitale ; il n'y aurait pas de modification dans les toxémies.

Globalement la phosphatase alcaline s'élève en fin de grossesse, mais la dispersion des taux est très grande pendant toute la gestation, principalement à la 34e semaine.

Il se dégage cependant que jusqu'à la 34e semaine les taux élevés sont presque toujours associés avec une souffrance foetale latente et contrairement à la bibliographie quelle qu'en soit la cause (I rénale chronique, iso immunisation).

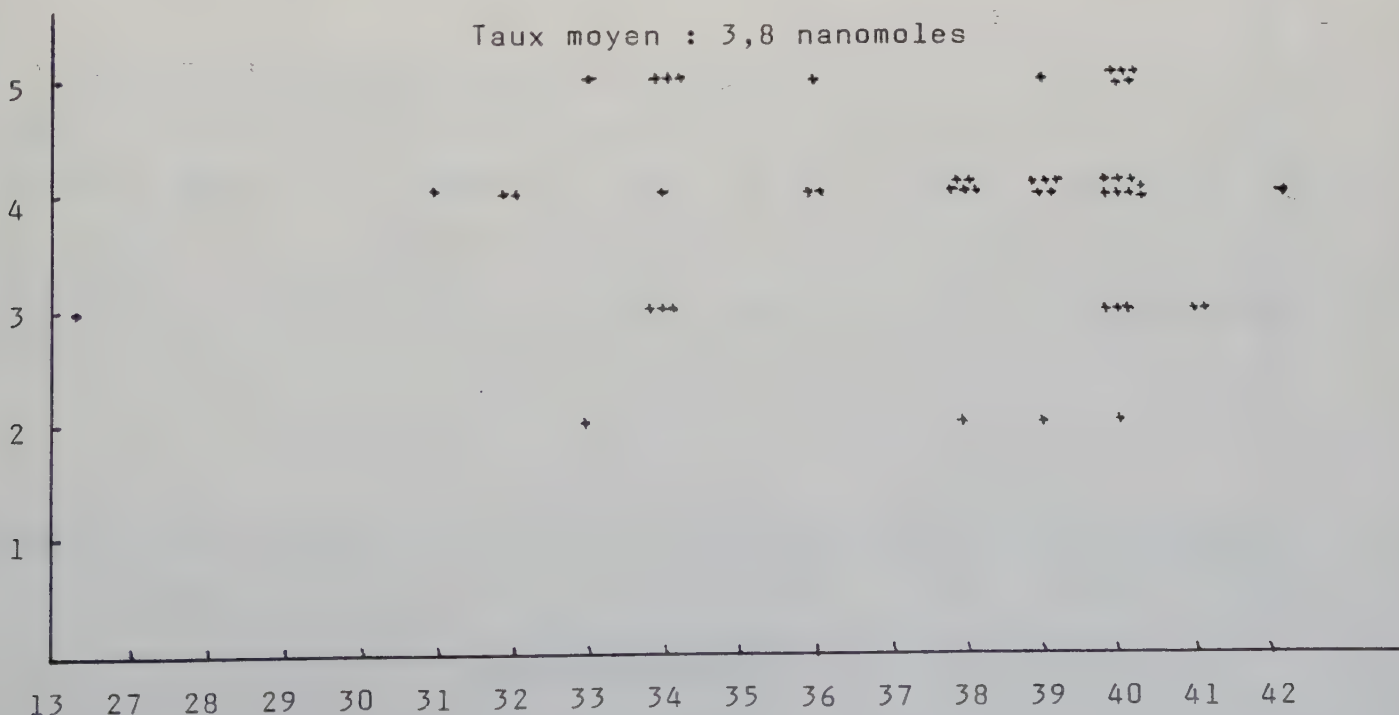
Les taux bas à la 33e et 34e semaine sont rencontrés après une cure de Betnesol (31e semaine 5 - 33 et 34` 1), dans un liquide hémorragique avec un index méconial = 0,20.

Tout ceci nous pousse à conclure que l'activité de la phosphatase alcaline ne peut servir que d'indicateur, mais dans l'état actuel de notre recherche, ne permet pas d'affirmer une souffrance foetale.

B - Phosphatase acide

Son origine serait l'urine foetale et les taux faibles pendant la grossesse, taux $1,35 \pm 1,03$ mU/ml (GEYER).

Comme l'avait montré SUTCLIFFE et Coll. (1972) nous ne notons pas d'activité avant la 31e semaine. Pour nous, après un maximum à la 34e semaine environ la courbe d'évolution tendrait à l'infléchissement jusqu'à la 38e semaine et resterait ensuite relativement stable, avec une petite remontée à la 40e semaine.



Etant donné la dispersion des taux dans une fourchette assez réduite, nous ne pouvons, comme l'ensemble des auteurs, retenir un intérêt dans l'étude de l'activité phosphatasique acide.

C - Phosphoamidases

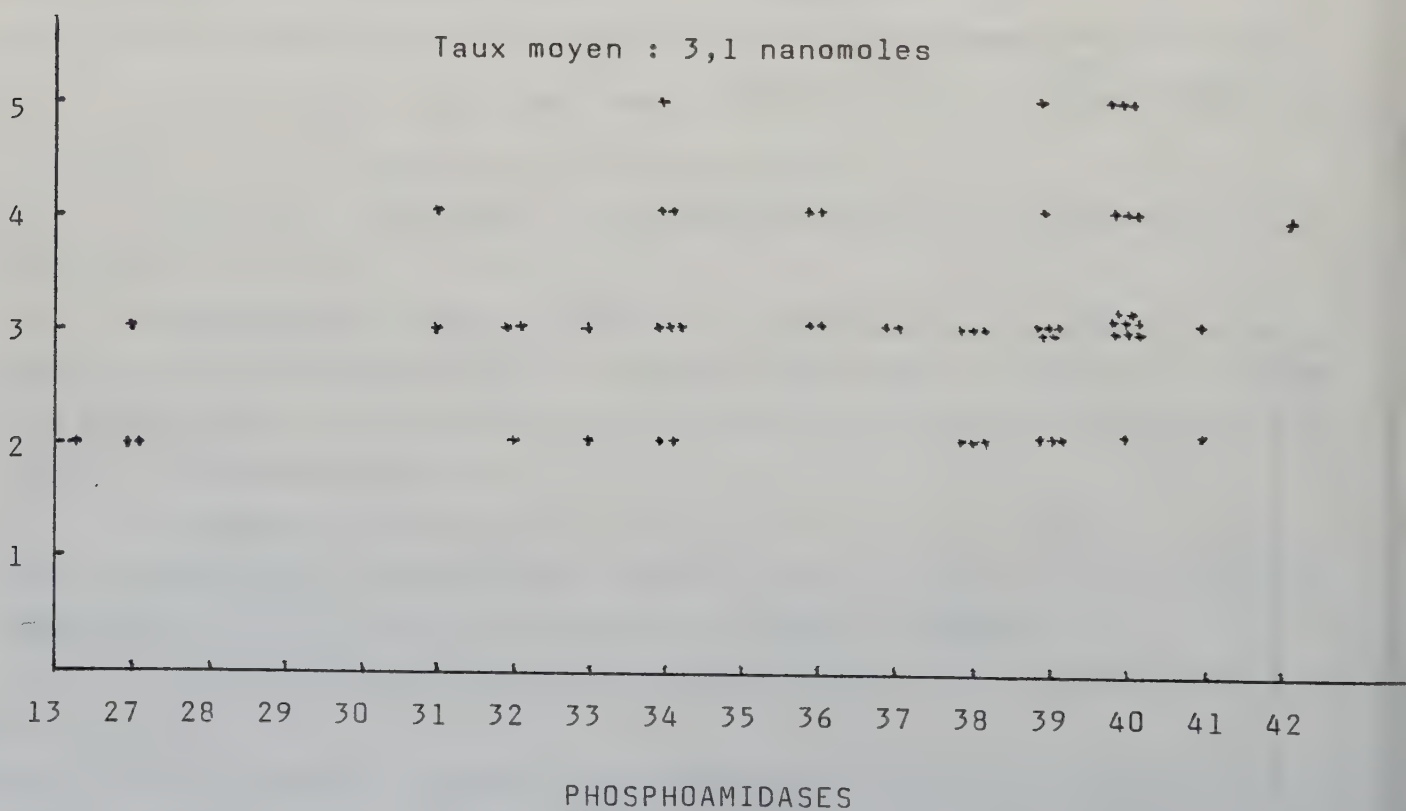
Les phosphoamidases catalysent l'hydrolyse de la phospho-créatine, de la phospho-arginine, de la phospho-lysine et d'une manière plus générale des amides phosphoriques N substituées.

Elles sont présentes dans tous les liquides amniotiques à un taux relativement stable ; il existerait peut être un petit pic entre la 34e et la 36e semaine. Les taux maximum que l'on a obtenus ont été trouvés : - à la 34e semaine chez un mort né

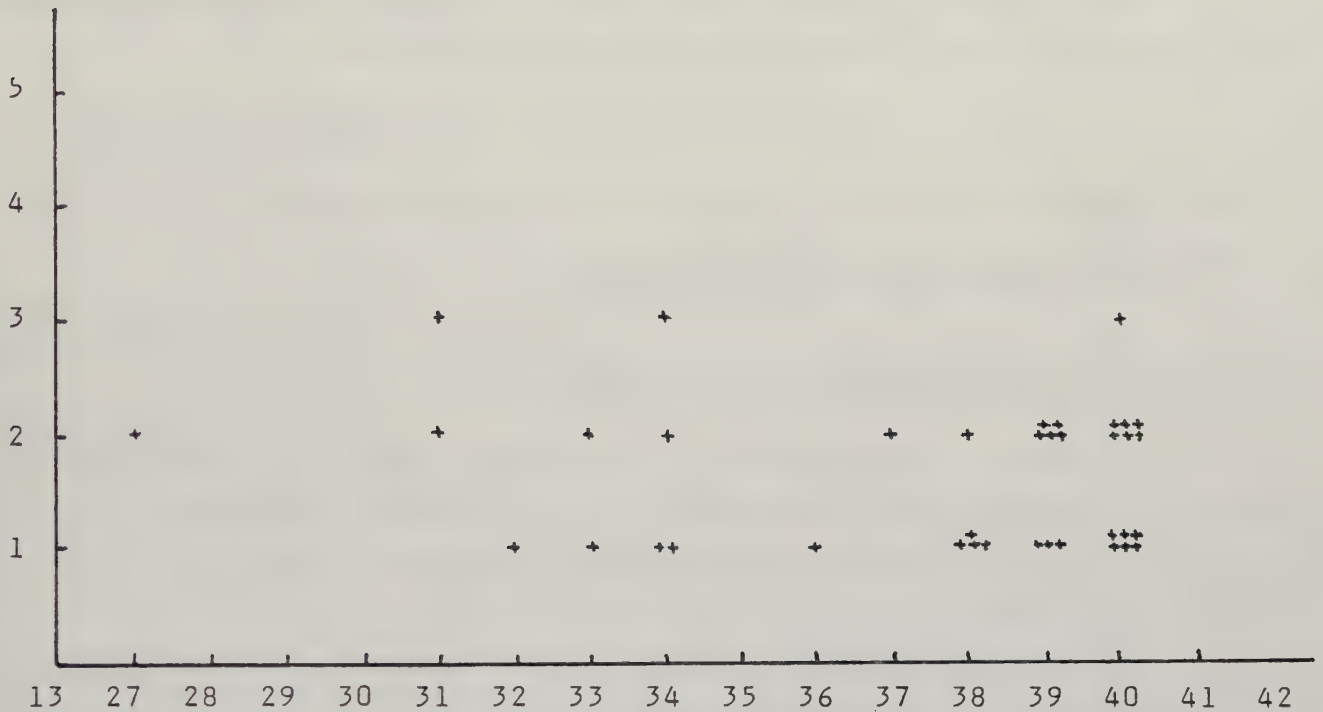
- à terme dans deux liquides méconiaux et dans deux liquides apparamment complètement normaux.

On peut simplement remarquer que la quantité de phosphoamidases est très importante dans tous les méconiums que nous avons analysés.

Etant donné que les taux élevés sont présents aussi bien dans des liquides normaux que pathologiques, le dosage de ces activités enzymatiques n'est pas discriminant.



D - Phosphodiesterase



PHOSPHODIESTERASE

La phosphodiesterase n'est pas une enzyme très spécifique. Nous ne l'avons pas cherchée dans tous nos liquides, mais elle est présente pendant la grossesse à des taux relativement constants. Nous ne pouvons dire à quel âge gestationnel elle apparaît, puisqu'elle est absente à la 13e semaine et présente à la 27e. Aucune anomalie du liquide amniotique et de l'enfant ne semble modifier ses taux de manière importante.

IV - 5' NUCLEOTIDASE

Selon GALERNE les taux, pendant la grossesse, seraient compris entre 5 et 20 UI. Elle est présente dans l'épithélium amniotique (DANDIANI -1958-).

V - GLUCOSE-6-PHOSPHATASE

Cette enzyme n'a jamais pu être mise en évidence par de nombreux auteurs que ce soit dans le liquide amniotique ou dans les membranes.

VI - AMYLASES

Elles hydrolysent l'amidon en maltose.

Elles auraient pour origine le pancréas et les glandes salivaires fœtales via l'urine et la salive (WOLF et TAUSSIG -1973-).

Les amylases apparaissent à la 16e semaine, augmentent progressivement ensuite et brutalement après la 36e semaine. Selon FERNANDEZ DE CASTRO et coll. (1975) il existerait une bonne corrélation entre un taux amniotique supérieur à 200 UI/l et la maturité fœtale.

D'autres auteurs (WOLF et TAUSSIG -1973-) trouvent des valeurs allant de 7 à 148 unités entre la 36e et la 40e semaine.

VII - SPHINGOMYELINASE

A été étudié par EPSTEIN et coll. (1971) sur des cultures cellulaires provenant du liquide amniotique. Ils purent faire le diagnostic anténatal de maladie NIEMANN-PICK chez une femme ayant déjà eu un enfant atteint.

VIII - ARYL-SULFATASE

Des grossesses à risque de leucodystrophie métachromatique ont pu être suivies par cultures cellulaires amniotiques (NADLER -1973-). En même temps, pour compléter le diagnostic, BOOTH (1975) a recherché la cérébroside sulfatase.

Nous n'en avons jamais retrouvé de traces dans le liquide amniotique.

IX - HYALURONIDASE

Elle hydrolyse l'acide hyaluronique. Son taux augmente au cours de la grossesse, d'un travail bref, mais diminue lors d'un accouchement prolongé.

Elle augmenterait la perméabilité et la fragilité vasculaire en endommageant les vaisseaux (SLUNSKY -1960-).

Taux : entre 12 et 21 unités et diminution en cas d'hydramnios (DONSKIKH et INANOVA -1963-).

X - LYSOZYME ou MURAMIDASE

Elle hydrolyse les mucoprotéines de la capsule bactérienne.

Rôle : bactéricide du liquide amniotique au 9e mois avec un maximum à la 40e semaine (LARSEN - GALASK - SNYDER -1974-).

La présence de méconium aurait une action inhibitrice sans doute due à son contenu biliaire.

HYDROLASES

GLYCOSIDASES

Les glycosidases sont des enzymes impliquées dans la digestion des oligo et polysaccharides cellulaires et extracellulaires, ainsi que dans la régulation du taux des glycolipides, glycoprotéines, glucosaminoglycanes, gangliosides, mucopolysaccharides des tissus. Les glycosidases n'interviennent pas uniquement dans les processus d'hydrolyse, mais ont également des fonctions de transglycosylation, l'accepteur étant généralement un alcool ou un sucre.

Liste des glycosidases recherchées

- α D-galactosidase
- β D-galactosidase
- β D-glucuronidase
- α D-glucosidase
- β D-glucosidase
- N-acétyl- β D-glucosaminidase
- α D-mannosidase
- α L-fucosidase
- β D-xylosidase
- α D-xylosidase
- β D-fucosidase
- β L-fucosidase
- N-acétyl- β D-glucosaminidase
- lactosidase
- arylsulphatase
- arabinosidase
- cellobiosidase

Toutes les valeurs données dans ce chapitre sont extraites des travaux de J. BUTTERWORTH et coll. (1972).

I - α GALACTOSIDASE

Son taux augmenterait en fin de grossesse et reste de toute façon très faible (0,016 nanomole/ml/heure) entre la 36e et 41e semaine

11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-41
0,005	0,006	0,009	0,008	0,011	0,016

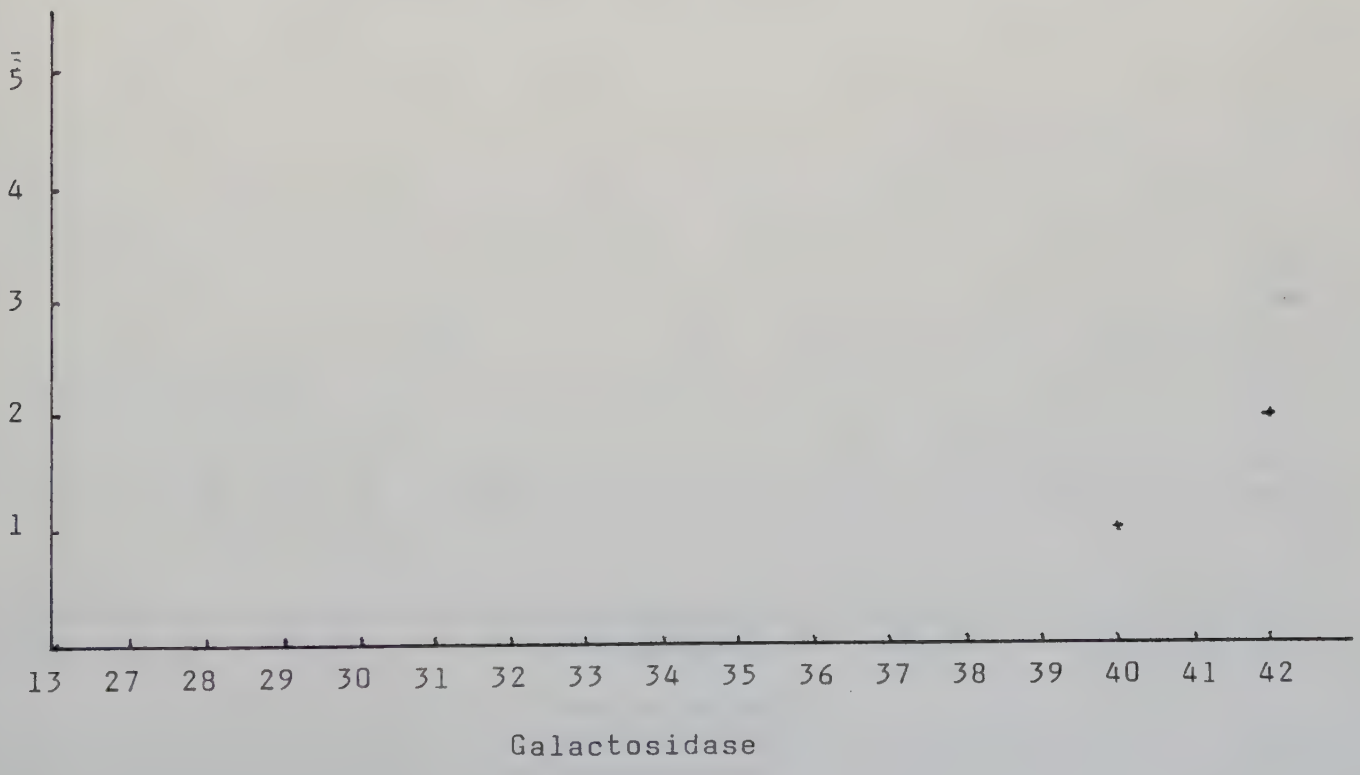
Nous n'avons jamais pu mettre en évidence dans nos liquides amniotiques.

II - β GALACTOSIDASE

La courbe d'évolution aurait un pic à la 16e-20e semaine et en fin de grossesse.

11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-41
0,020	0,022	0,018	0,016	0,020	0,029

taux moyen: 2/56



POTIER et coll. (1974) pensent que ces enzymes pourraient être un indicateur de l'âge foetal, mais on peut aussi se demander quelle fiabilité accorder à des taux de l'ordre du 1/1000 de nanomole.

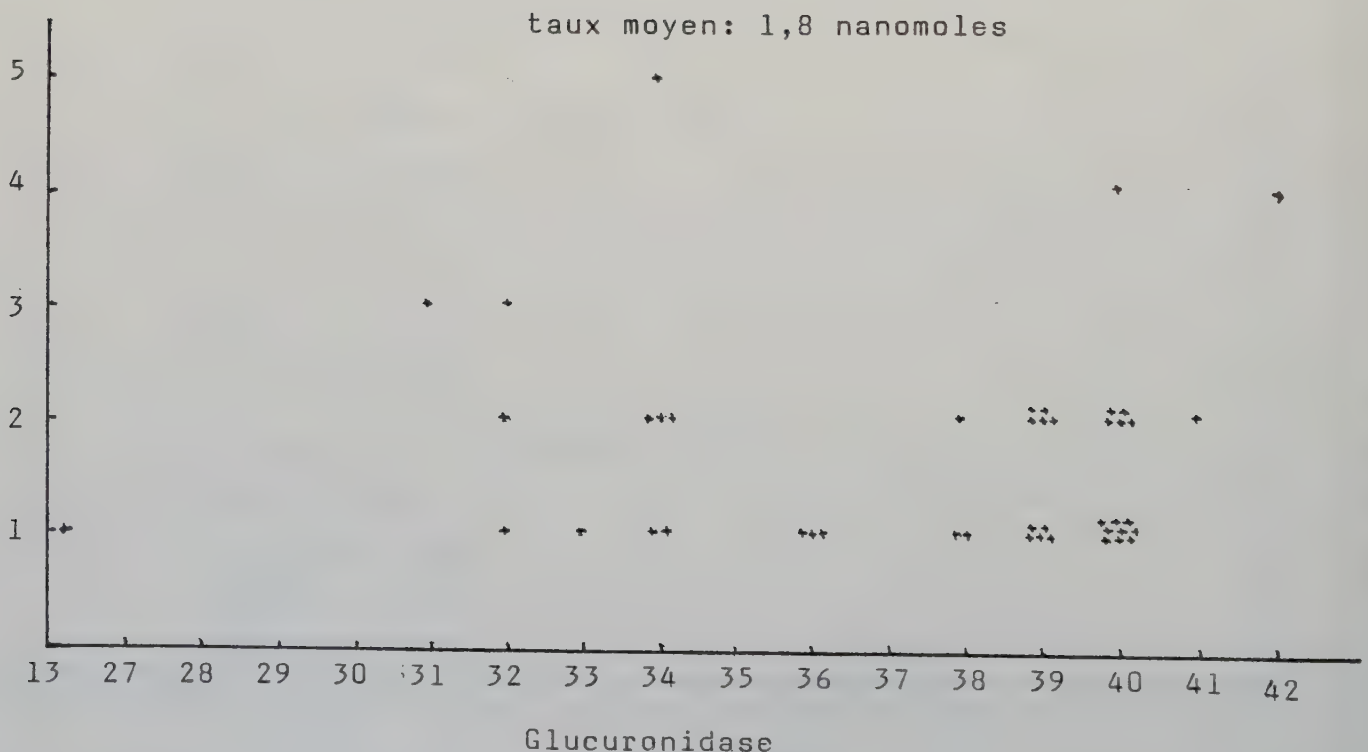
Nous avons trouvé deux taux positifs : l'un dans un terme dépassé et l'autre dans un accouchement normal (enfant pesant 3 kg 950)

III - β GLUCURONIDASE

Elle hydrolyse les substances glucurono-conjuguées, notamment les stéroïdes.

L'origine serait maternelle (TAKIMOTO et MATSUDA -1971-); le placenta pourrait être un lieu de concentration (BAUDON, DASTUGUE, BASTIDE et coll. -1960-). Son taux serait maximal à la 18e et 30e semaine 0,30 à 1,97 nanomole/ml/minute.

11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-41
0,25	0,38	0,57	0,63	0,44	0,35



Nous voyons apparaître l'activité à la 31e semaine, avec, semble-t-il, une diminution vers la 36e semaine et une remontée relative en fin de grossesse.

Les taux semblent cependant relativement stables.

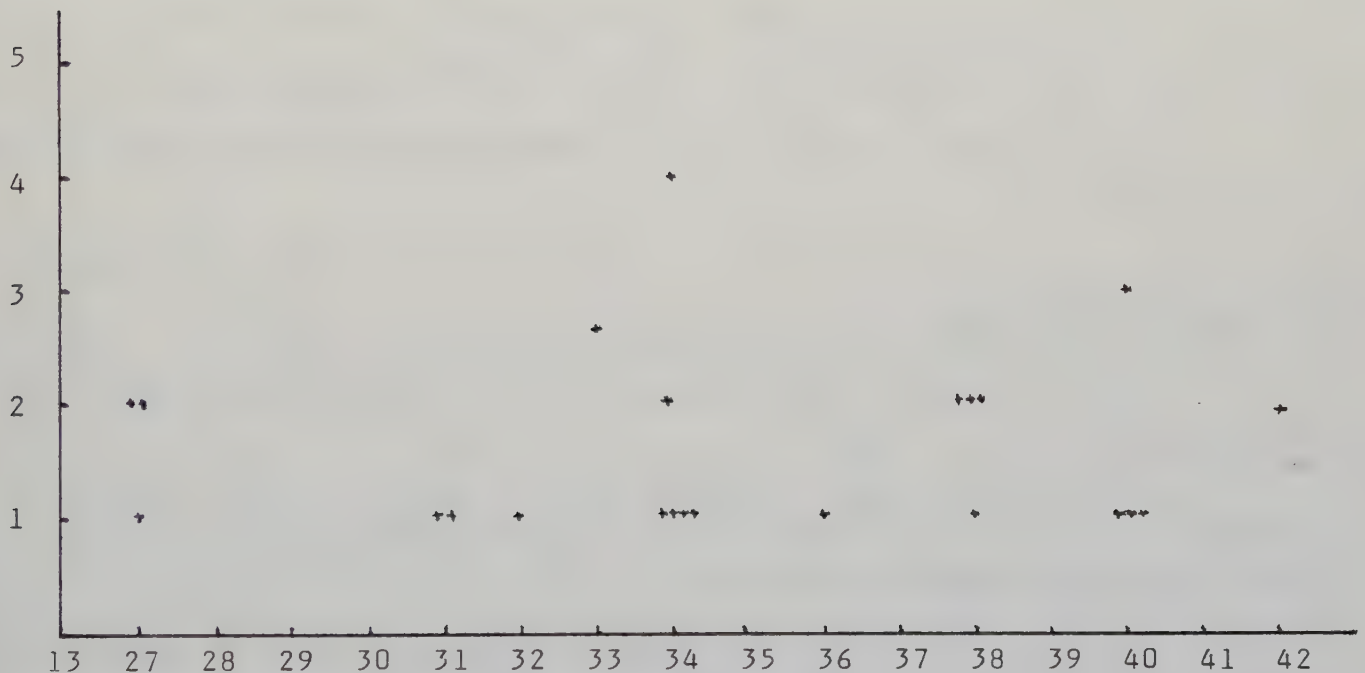
A la 34e semaine le taux très élevé correspond à une souffrance foetale aigue. A la 40e semaine, il s'agit d'un liquide méconial et à la 42e semaine d'un terme dépassé avec souffrance foetale.

IV - α GLUCOSIDASE

Le taux serait maximal en début de grossesse et diminuerait ensuite jusqu'à terme.

11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-41
1,53	1,40	0,51	0,18	0,16	0,21

taux moyen: 0,5 nanomole



Glucosidase

Nos taux sont assez stables jusqu'à la 34e semaine puis sont décroissants ou disparaissent par la suite : en effet, on ne les retrouve qu'inconstamment à partir de la 38e semaine.

Une augmentation du taux signe, semble-t-il, une grossesse pathologique.

- 33e semaine = iso immunisation
- 34e " = souffrance foetale
- 40e " = liquide méconial
- 42e " = terme dépassé

Cependant les liquides méconiaux ont un taux inconstamment élevé. Il semble y avoir une augmentation parallèle de l' α glucosidase et de la β glucuronidase puisque tous nos taux anormaux se rencontrent dans les mêmes cas.

V - β GLUCOSIDASE

L'évolution est la même que pour l' α glucosidase : taux maximal en début de grossesse et décroissance progressive.

11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-41
0,066	0,043	0,020	0,004	0,003	0,002

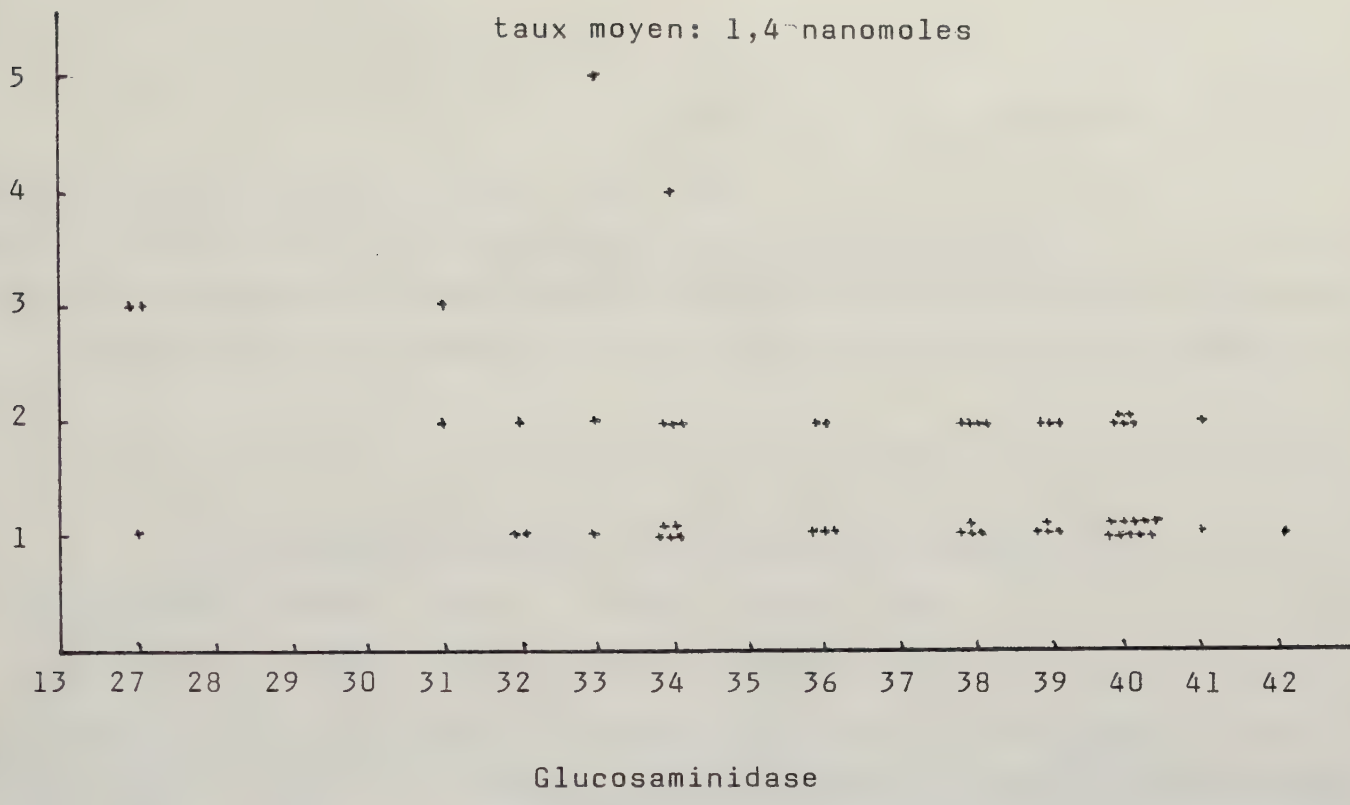
Nous n'avons pas mis en évidence d'activité glucosidase dans nos liquides.

VI - β GLUCOSAMINIDASE

Nous en avons trouvé dans tous les liquides sauf à la 13e semaine.

Les taux semblent diminuer vers la 32e semaine et rester ensuite constants de la 34e à la 42e semaine (pas de modification dans les termes dépassés).

Le taux, là encore, le plus élevé est celui de la souffrance foetale à 33 semaines ; les 2 hydramnios à la 27e semaine révolue et un autre à la 31e semaine révolue, une iso-immunisation à la 33e semaine révolue et à la 34e semaine (2 amniocentèses successives).



Il est donc intéressant de noter que les 3 hydramnios de notre série ont un taux anormalement élevé dont 2 avec une α foeto-protéine élevée (11500 et 20000). Par contre, le méconium ne semble pas modifier l'activité glucosaminidase.

VII α MANNOSIDASE

La courbe d'évolution est assez stable avec un petit maximum entre la 21e et 25e semaine

11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-41
0,31	0,34	0,44	0,39	0,28	0,26

Nous n'en avons jamais trouvé dans notre série.

VIII α FUCOSIDASE

11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-41
0,87	1,05	1,59	1,45	1,04	1,06

Tous nos taux sont négatifs.

IX - β D FUCOSIDASE et β L FUCOSIDASE

Nous avons trouvé un seul taux positif à la 13^e semaine, mais comme il n'existe pas de recherche antérieure de cette activité, il est difficile de tirer des conclusions. Il est possible cependant que ces enzymes disparaissent rapidement ou qu'il s'agit d'un faux positif.

X - N - ACETYLO α D GLUCOSAMINIDASE

Son maximum se situe vers le milieu de la grossesse.

11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-41
9,94	11,85	16,54	16,01	13,70	12,25

Malgré les taux élevés trouvés par l'auteur, nous n'avons mis en évidence aucune activité enzymatique.

XI - ARABINOSIDASE

Le taux maximum se situe en début de grossesse puis il existe une diminution très lente jusqu'au terme.

11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-41
0,024	0,018	0,008	0,008	0,006	0,005

Nous n'avons trouvé aucune activité dans nos liquides.

XII - AUTRES GLYCOSIDASES

β D XYLOSIDASE : toujours négatif

α D XYLOSIDASE : 1 seul taux positif a été trouvé à la 13^e semaine. Il s'agit vraisemblablement d'une surinfection.

LACTOSIDASE : taux négatifs

CELLOBIOSIDASE : taux négatifs

HYDROLASES

AMINOPEPTIDASES et PROTEINASES

A - AMINOPEPTIDASES (aminoacides arylamidases)

Les aminopeptidases hydrolysent spécifiquement la liaison acide-CO-NH. Jusqu'à ces dernières années, elles n'ont pas fait l'objet d'études approfondies. Seules quelques enzymes représentatives ont été purifiées et répertoriées dans la classification internationale. Parmi celles-ci, la leucine aminopeptidase (LAP) est la plus connue. Bien que cette enzyme ait une préférence pour la leucine, elle ne se limite pas à l'hydrolyse de la leucine N-terminale des L-leucylpeptides, mais peut également être active sur les L-alanylpeptides, sur des aminoacides amides et sur des arylamides. Les substrats typiques de la LAP sont la L-leucyl-glycine, la L-leucyl-glycyl-glycine et la L-leucinamide.

B - PROTEINASES

Les protéinases rompent les liaisons peptidiques CO-NH à l'intérieur de grosses molécules protéiques pour les réduire à l'état de polypeptides. Pour cette raison, ces enzymes sont des endopeptidases, alors que les peptidases qui scindent les liaisons aux extrémités des chaînes protéiques sont des exopeptidases. Les termes "protéases" ou "enzymes protéolytiques" regroupent les endopeptidases et les exopeptidases.

La mise en évidence des protéinases par la méthode API ZYM se limite aux deux représentants les plus étudiés de ce groupe : la trypsine et la chymotrypsine.

Liste des aminopeptidases

- L-leucine-2-naphtylamidase
- L-valine-2-naphtylamidase
- L-cystine-2-naphtylamidase (ocytocinase)
- L-tyrosul- β -naphtylamidase
- L-pyrrolidonyl- β -naphtylamidase
- L-phenylalanyl- β -naphtylamidase
- L-Lysyl-naphtylamidase
- L-hydroxyprolyl-naphtylamidase
- L-histidyl-naphtylamidase
- L-glycyl-naphtylamidase
- α -L-aspartyl-naphtylamidase
- L-arginyl-naphtylamidase
- DL alanyl-naphtylamidase
- N- γ -L-glutamyl-naphtylamidase
- N-benzoyl-L-leucyl-naphtylamidase
- S-benzoyl-L-cystein-naphtylamidase
- N-glutaryl-L-phenylalanine-naphtylamidase
- DL methionine-naphtylamidase
- glycyl-glycine-L-naphtylamidase
- glycyl-L-phenylalanine-naphtylamidase
- glycyl-L-prolyl-naphtylamidase
- L-leucyl-glycine-naphtylamidase
- L-seryl-L-tyrosine-naphtylamidase
- N-CBZ-larginine-4-methoxy- β -naphtylamidase
- L-glutamine- β -naphtylamidase
- α -L-glutamyl-naphtylamidase
- L-isoleucine-naphtylamidase
- L-ornithine-naphtylamidase
- L-proline-naphtylamidase
- L-serine-naphtylamidase
- L-threonine-naphtylamidase
- L-tryptophane-naphtylamidase
- N-CBZ-glycylglycine-L-arginine- β -naphtylamidase
- trypsine
- chymotrypsine

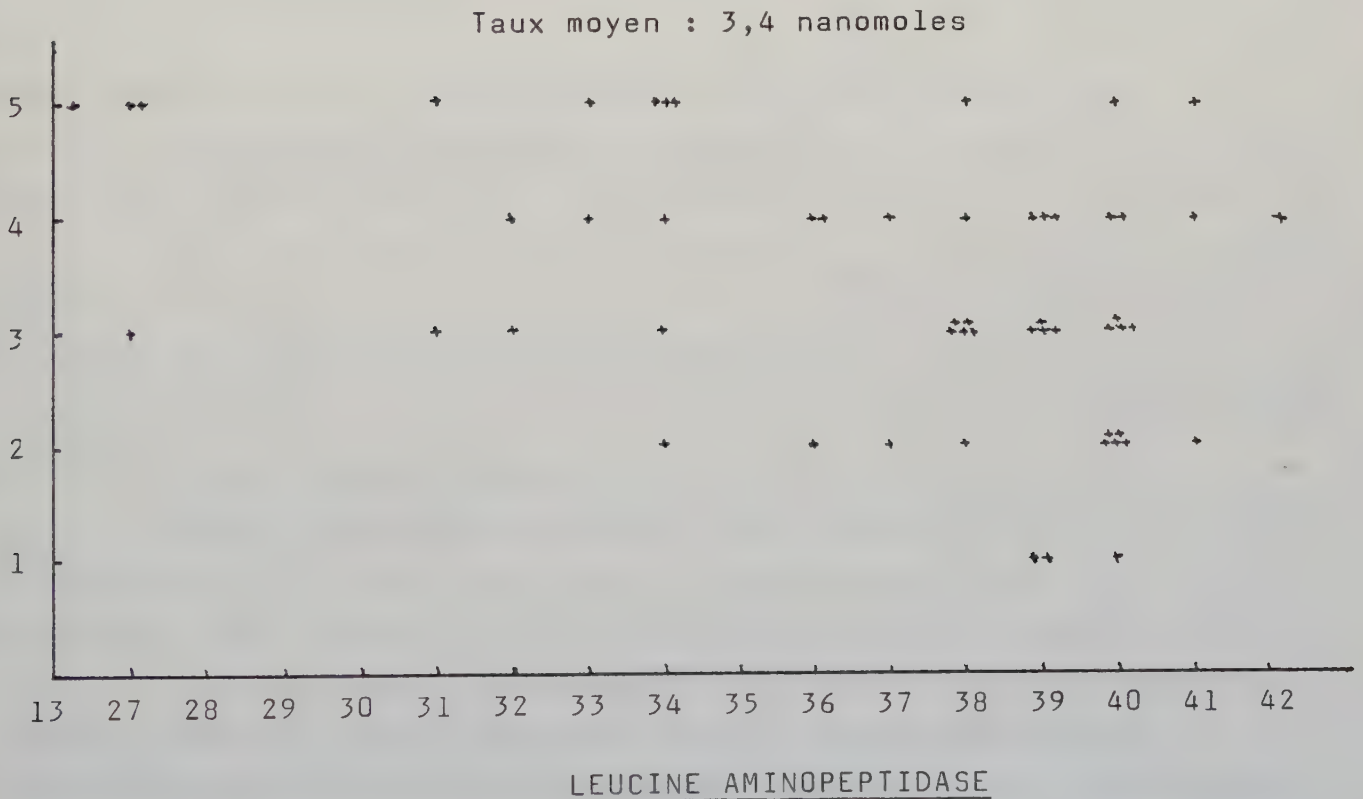
I - LEUCINE AMINOPEPTIDASE

Les taux sont faibles dans le liquide clair, (2,4 - 1,8 mU/ml) pendant le 3e trimestre (GEYER -1970-).

La macération et la présence de méconium augmentent l'activité (30 mU/ml).
En cas d'incompatibilité Rh avec attente foetale, il y a baisse importante.
Le taux dans le sérum est très supérieur à celui du liquide amniotique.

D'une manière générale, le taux de leucine aminopeptidase est relativement élevé dans le liquide amniotique quel que soit l'âge gestationnel.

La dispersion des taux est cependant très importante, rendant difficile toute déduction.



Cependant si on note tous les taux maximum

	27 SR
- hydramnios	27 SR
- souffrance foetale	31
- iso immunisation	33
- macrocéphale	34
- souffrance foetale	34
- cébrocéphalie	40
- bilan de vitalité	40
- liquide méconial	40 (inconstamment)

on constate qu'il existe une certaine relation entre un taux très élevé et une pathologie.

On peut aussi dégager une diminution générale des taux à partir de la 38e semaine jusqu'à la 40e semaine et une remontée à la 42e semaine.

Deux taux très bas sont trouvés :

- l'un à la 33e semaine après une cure de Betnesol
- les autres à la 40e semaine : il s'agissait d'enfants pesant 3 960 g, 3 650 g et 3 050 g.

Les résultats confirment partiellement les travaux antérieurs, mais à notre avis, pris isolément, les variations des taux de leucine aminopeptidase ne sont pas suffisamment significatifs pour être formels.

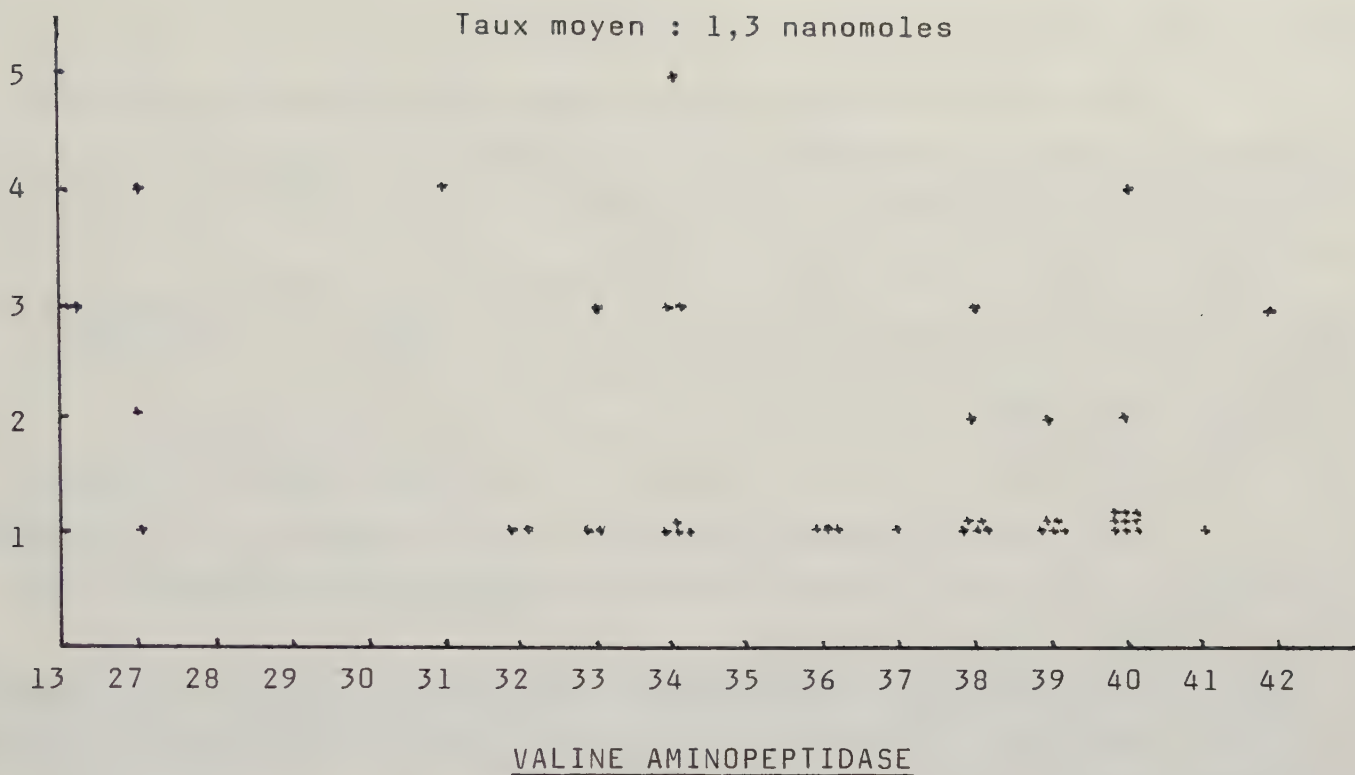
II - VALINE AMINOPEPTIDASE

Les taux sont relativement constants, de l'ordre de 5 nanomoles dans la majorité de nos résultats.

Il existe dans certains cas un couplage entre leucine aminopeptidase et valine aminopeptidase lorsque les taux sont élevés.

Ceci peut éventuellement s'expliquer par le fait que la leucine aminopeptidase a une affinité pour la leucine, mais aussi à un degré moindre pour la valine et inversement.

Leucine aminopeptidase et valine aminopeptidase sont élevées simultanément plus fréquemment lorsque l'origine de la souffrance semble être maternelle:



Insuffisance rénale chronique

Cancer du sein

Dans les malformés avec hydramnios les taux de valine aminopeptidase sont bas.

Les taux simultanément élevés quand on ne connaît pas de cause maternelle sont :

- le liquide méconial
- les souffrances foetales aiguës précédant de peu la mort foetale
- les bilans de vitalité foetale

Il semble donc que l'association valine aminopeptidase et leucine aminopeptidase semble refléter une grave anomalie de la gestation quelle qu'en soit la cause.

III - CYSTINE AMINOPEPTIDASE ou OCYTOCINASE

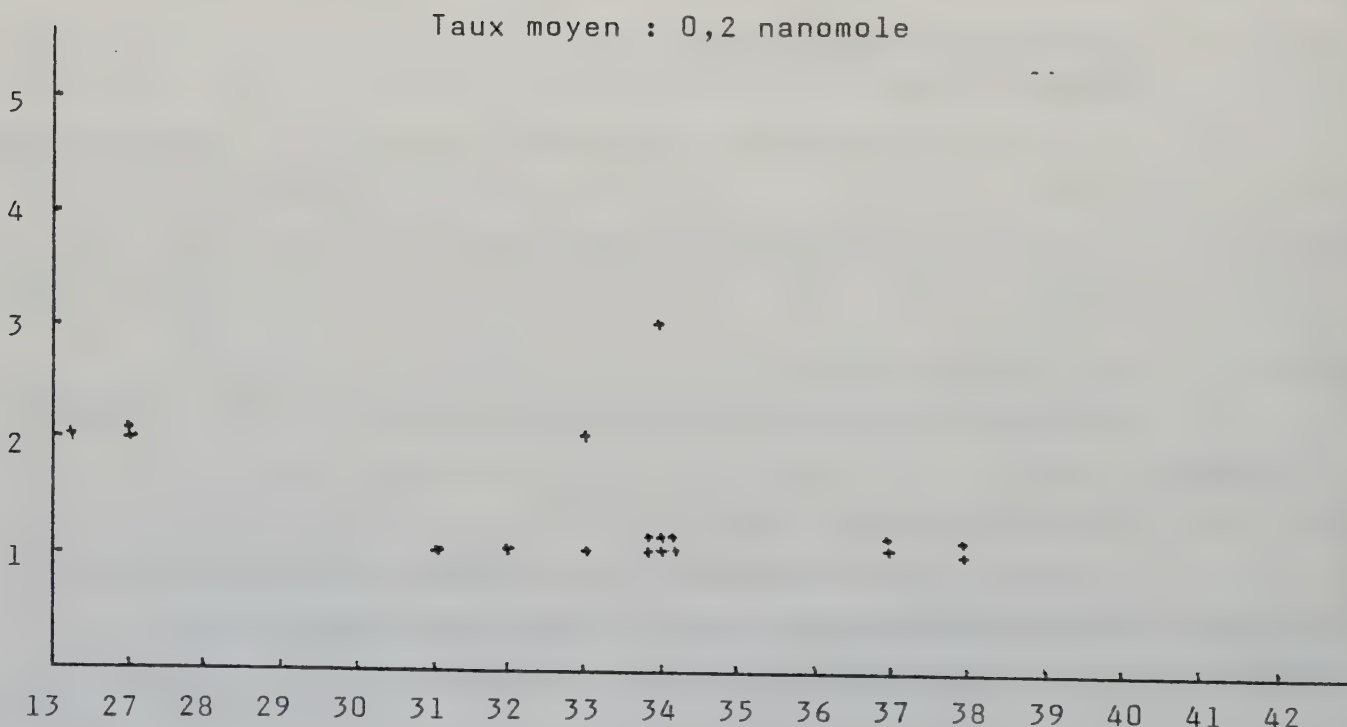
Sous la dénomination d'ocytocinase est regroupée toute une famille d'enzymes, probablement des aminopeptidases et / ou des aminoacides arylamidases, qui hydrolysent le pont peptidique entre la cystéine en position 1 et la tyrosine.

BLUM et coll. (1975) ont trouvé que l'activité augmente de la 12e à la 24e semaine puis décroît vers la 40e semaine. Les taux sont toujours peu élevés.

Nous en avons noté la présence très inconstamment (14/66).

Ceci semble donc correspondre à la littérature et est logique puisque les taux sont toujours négatifs en fin de grossesse ou lors d'accouchement prématuré.

L'ocytocinase est constamment rencontrée jusqu'à la 34e semaine. Les deux exceptions concernent un liquide à la 27e semaine et un autre à la 34e semaine (accouchements prématurés).



CYSTINE AMINOPEPTIDASE ou OCYTOCINASE

Le taux le plus élevé est celui d'une souffrance foetale aigue avec mort à la naissance. Dans ce cas cette élévation doit signer un état gravissime du foetus avec désordres métaboliques importants.

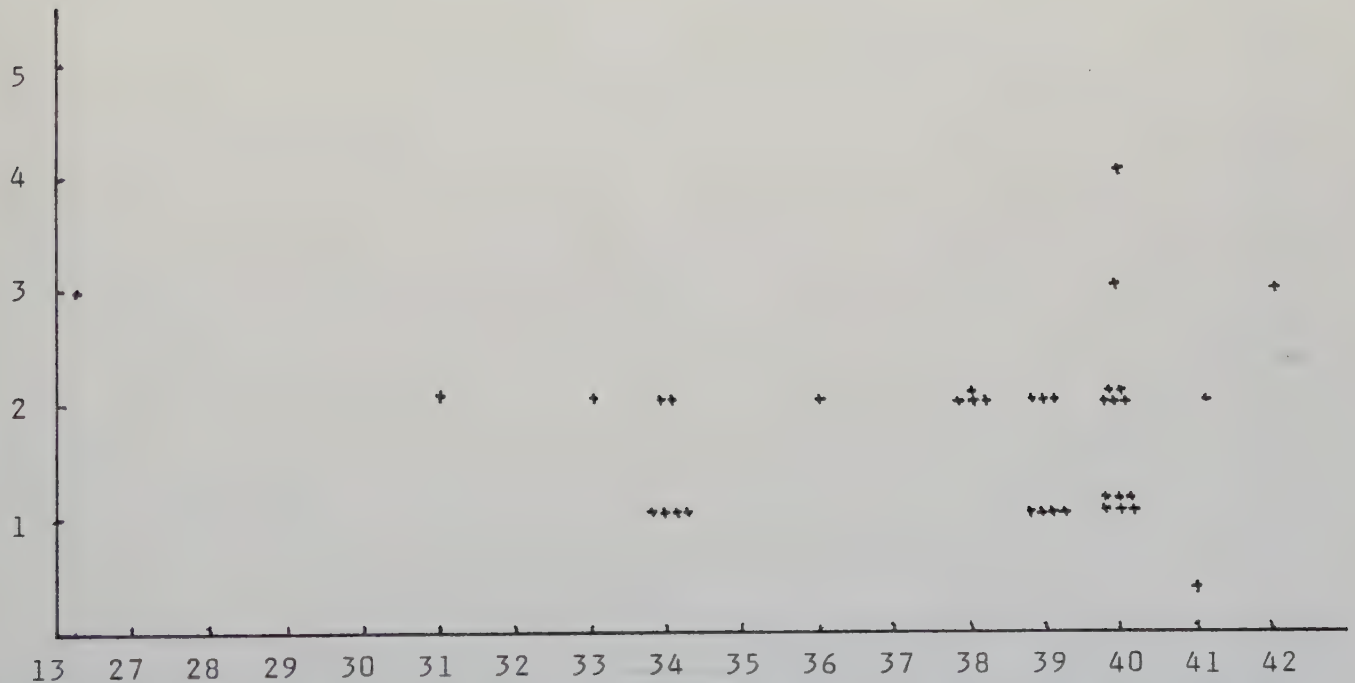
Les liquides méconiaux n'en contiennent pas bien que le méconium pur ait des concentrations élevées.

En conclusion, le dosage de l'ocytocinase semble être un indicateur d'âge gestationnel quand la grossesse se déroule normalement. Sa disparition pourrait être due soit à un système de neutralisation soit à un arrêt de production lorsque le terme approche. On peut cependant remarquer que le taux est aussi négatif en cas de terme dépassé.

IV - TYROSYL AMINOPEPTIDASE

Elle est présente à la 13e semaine, mais dans un oeuf mort, puis n'apparaît ensuite qu'à la 31e semaine pour rester à des taux relativement constants pendant la fin de la gestation.

Taux moyen : 1,2 nanomoles



TYROSYL AMINOPEPTIDASE

Les taux les plus élevés sont notés dans des liquides méconiaux et dans un terme dépassé. Certains liquides n'ont pas d'activité ; ce sont toujours cependant des liquides prélevés par amniocentèse et notamment dans les iso-immunisations.

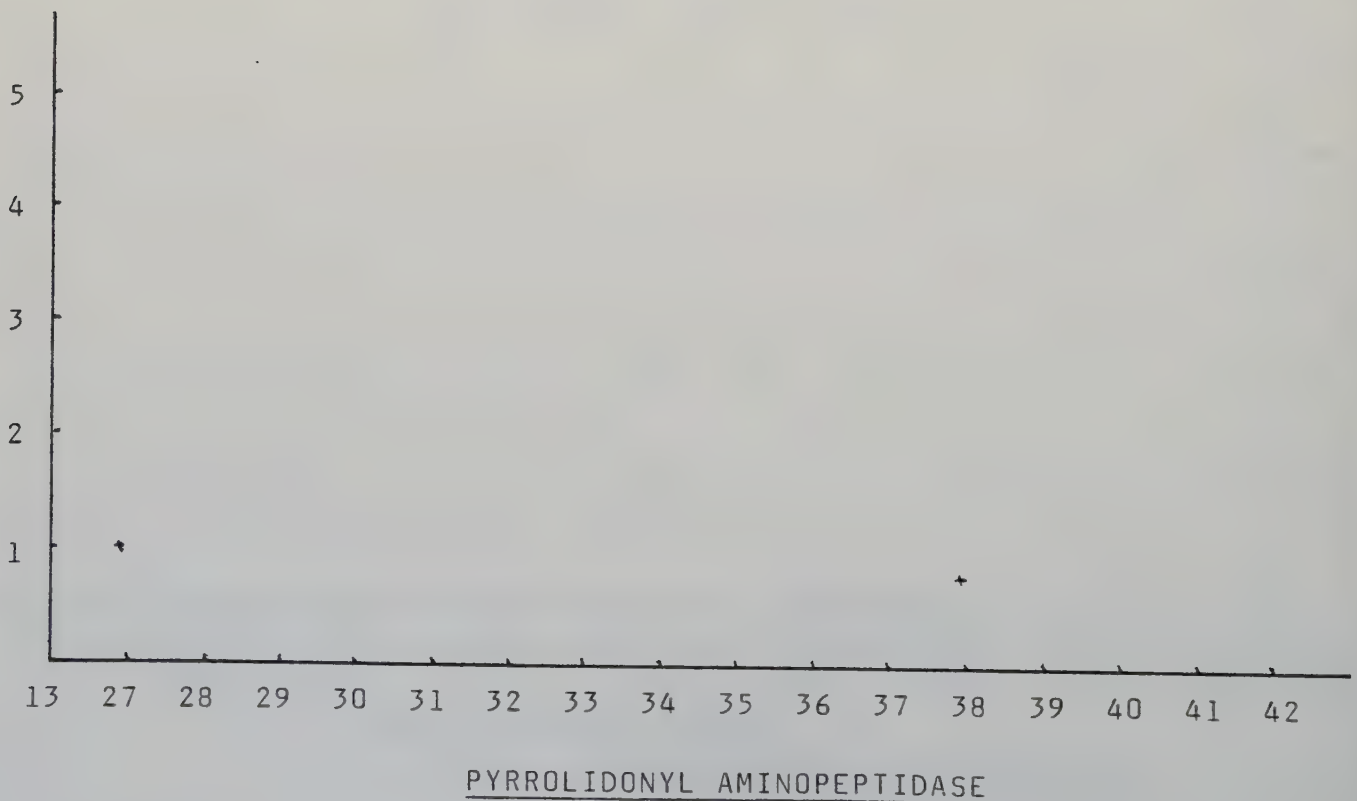
La seule conclusion qu'il est possible de tirer pour l'instant est celle d'un indicateur d'âge gestationnel mais on ne peut pas faire une relation entre un état pathologique et une modification des taux.

V - PYRROLIDONYL AMINOPEPTIDASE

Nous ne commenterons pas cette activité enzymatique car nous ne sommes pas sûrs de sa spécificité et de son existence réelle. Deux taux seulement sont positifs : - un hydramnios à la 27e semaine

- un autre à la 38e semaine lors d'une césarienne (nous n'avons pas l'étude du liquide amniotique classique).

A noter que l'activité dans le méconium est très inconstante et peu élevée.



VI- PHENYLALANYL AMINOPEPTIDASE

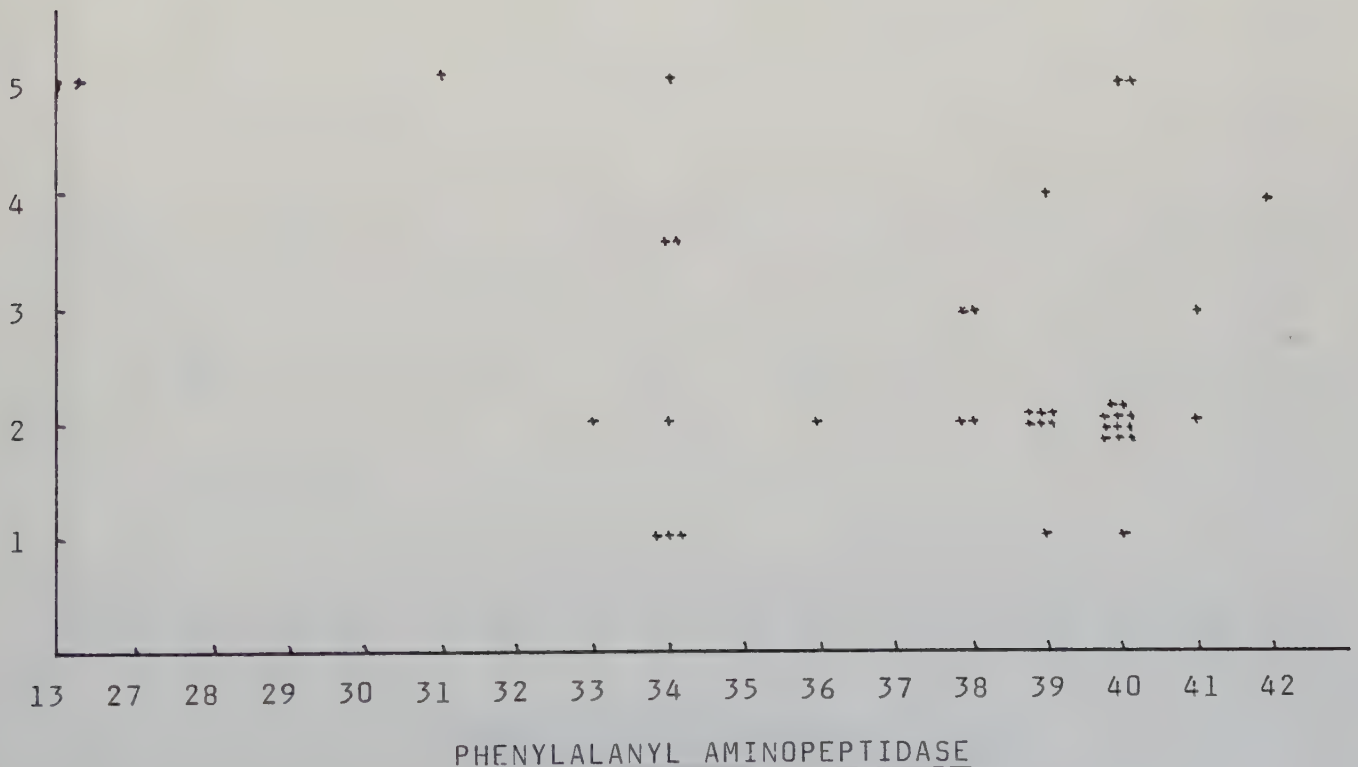
Tous les taux sont négatifs avant la 31^e semaine (sauf un cas de grossesse arrêtée à la 13^e semaine). Tous les liquides ont ensuite une activité à partir de la 34^e semaine. Le maximum des valeurs est rencontré en cas de liquide méconial de terme dépassé et de mort foetale récente ; un taux important a été noté au cours d'un accouchement normal.

Inversement, il y a une absence d'activité dans les cas suivants

- 1 cébocéphalie
- iso immunisation rhésus
- lorsqu'il y a présence d'hématies foetales ou maternelles dans le liquide

Il semble donc que dans un certain nombre de circonstances l'activité phénylalaninyl aminopeptidasique disparaisse, peut être par inhibition.

Taux moyen : 1,9 nanomoles



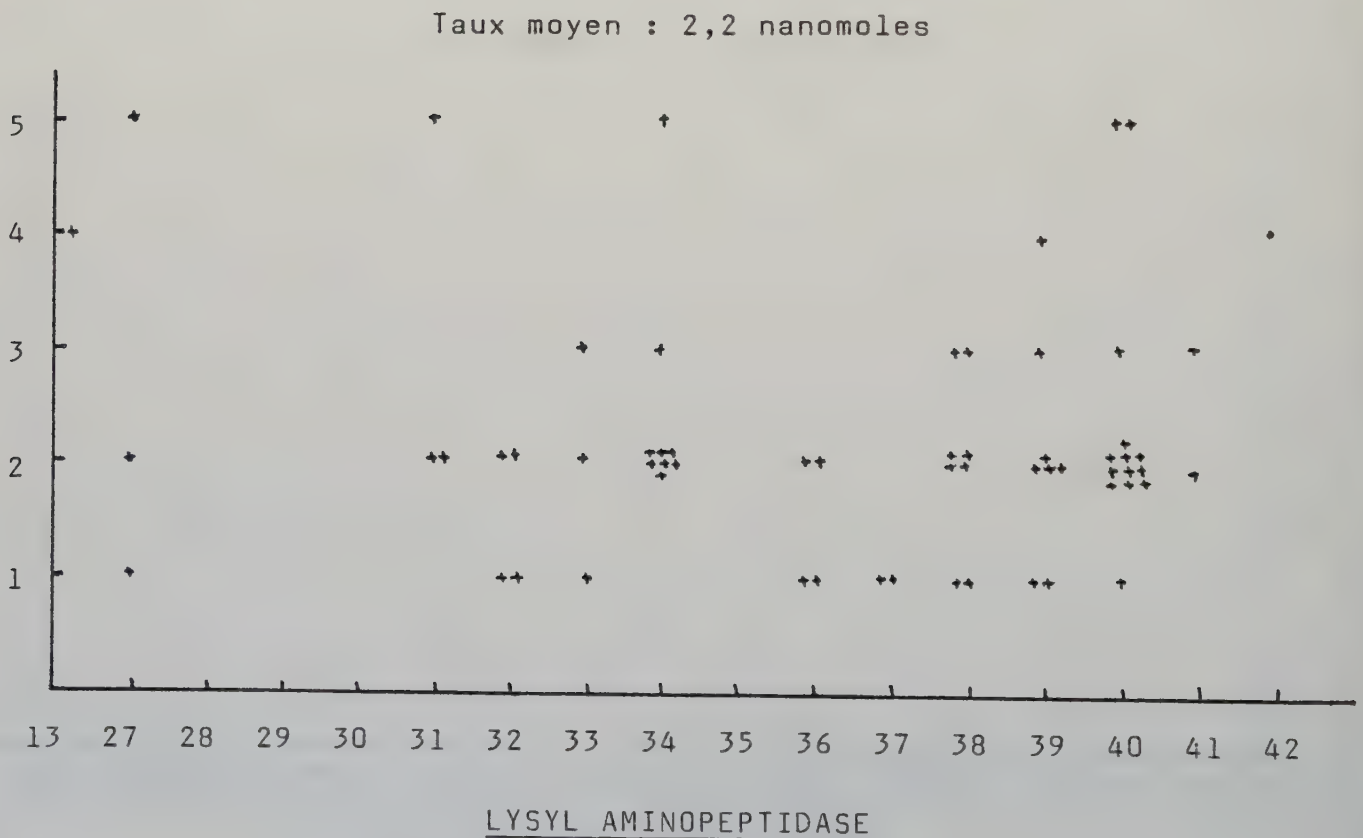
VII - LYSYL AMINOPEPTIDASE

Tous les liquides amniotiques ont une activité, et la sensibilité de ces dosages est intéressante : en effet, les liquides prélevés lors de grossesses franchement pathologiques ont des écarts importants par rapport à la moyenne.

Là encore, les taux élevés sont rencontrés en cas de souffrance foetale, dans les liquides méconiaux et dans les termes dépassés.

Les taux bas concernent les mêmes grossesses que précédemment.

Pour conclure on peut dire que le diagramme des valeurs est superposable à celui de la phénylalaninyl aminopeptidase, mais que le dosage de la lysyl aminopeptidase est plus sensible. Il apparait en plus que son taux est relativement constant au cours de la grossesse.



VIII - HYDROXYPROLYL AMINOPEPTIDASE

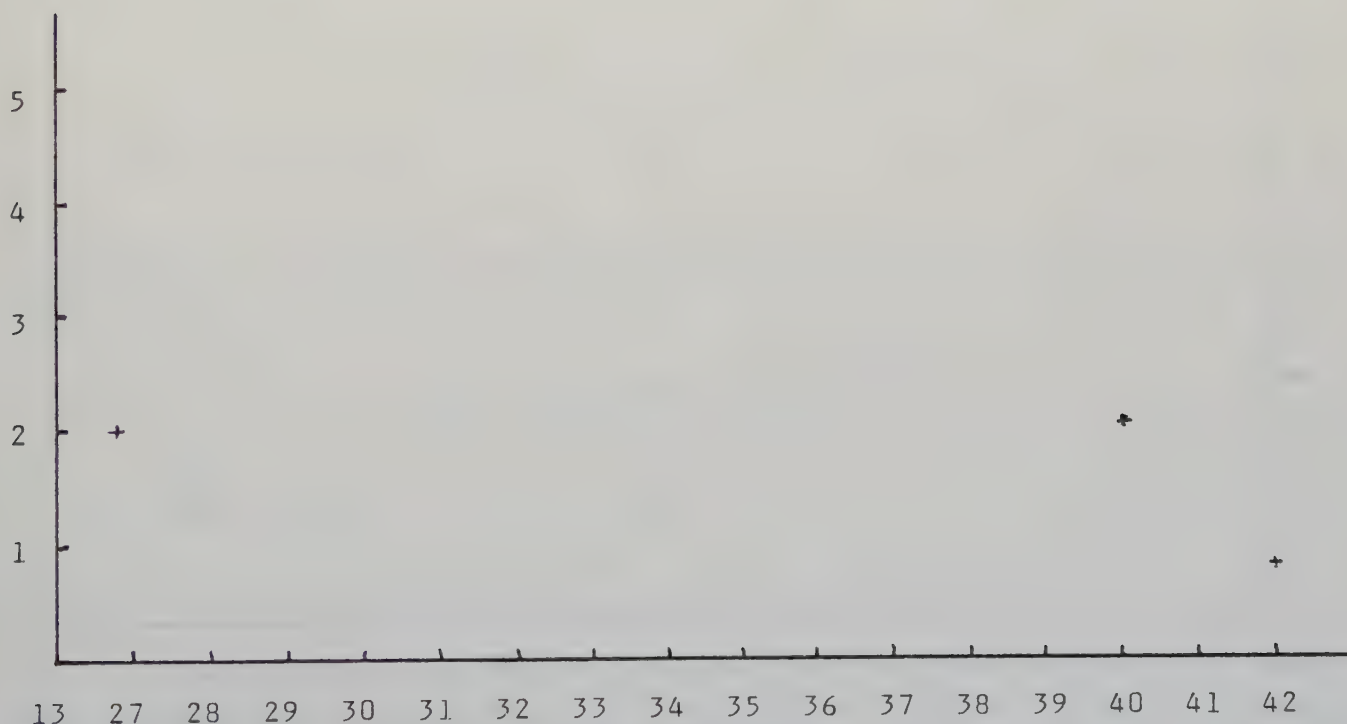
L'activité est retrouvée dans trois liquides seulement :

- 1 hydramnios à 27 semaines révolues chez une femme porteuse d'insuffisance rénale avec dialyse quotidienne.

- 1 terme dépassé à 42 semaines

- 1 liquide méconial à 40 semaines

Il est difficile de conclure sur le nombre peu élevé d'activités positives. Dans les trois cas il existe un certain degré de souffrance foetale, mais dans de nombreux autres liquides pathologiques avec souffrance de l'enfant aucune activité n'est quantifiable par notre système. Nous ne pouvons pas en déceler la raison.

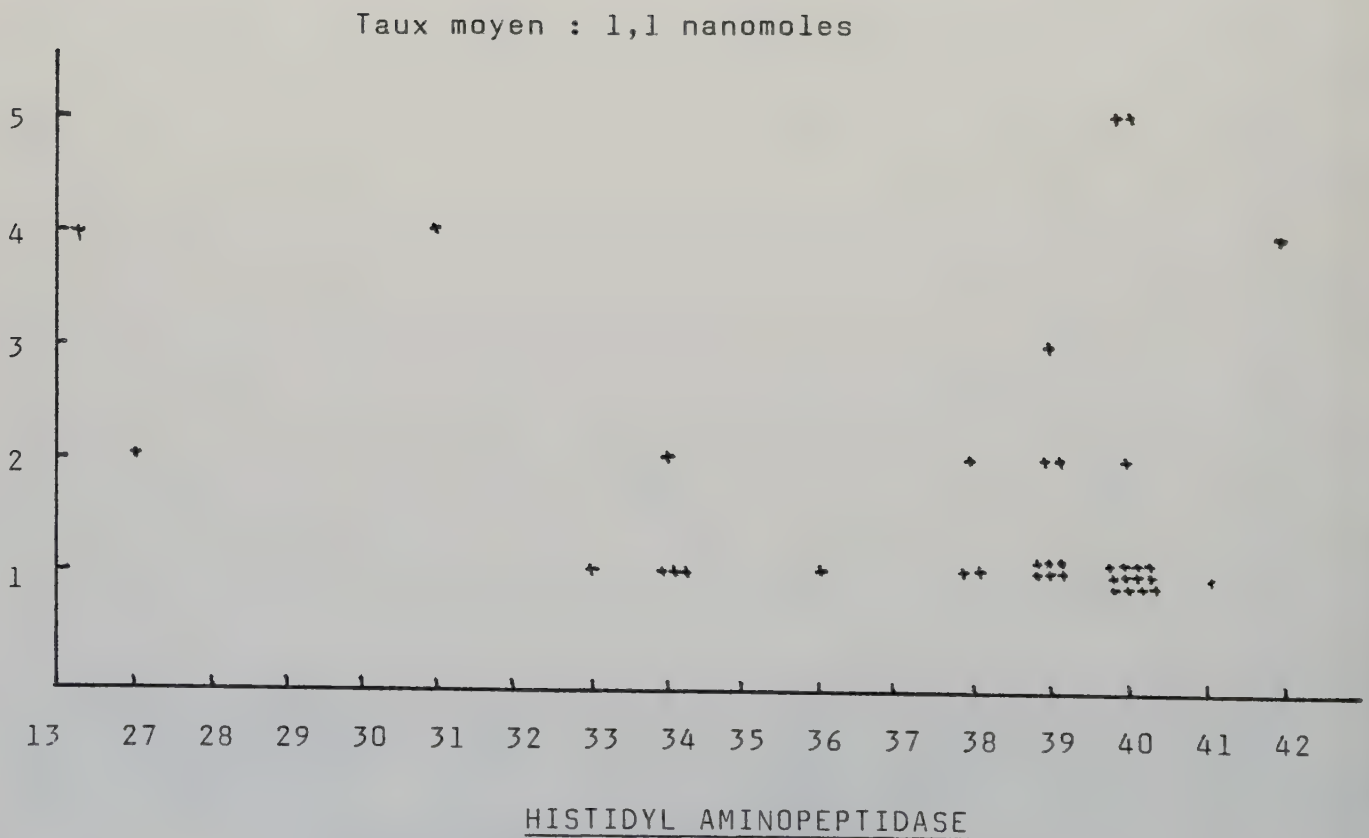


HYDROXYPROLYL AMINOPEPTIDASE

IX - HISTIDYL AMINOPEPTIDASE

Les taux positifs ne sont pas retrouvés dans tous les liquides. Au point de vue quantitatif, il existe une certaine constance des valeurs depuis la 13^e semaine jusqu'à terme. Dans un certain nombre de cas pathologiques, les taux se superposent à ceux rencontrés dans le dosage de la phénylalaninyl aminopeptidase, notamment dans les problèmes d'iso-immunisation rhésus, de Kleihauer positif de terme dépassé ou de liquide méconial.

Des différences apparaissent cependant à la 27e semaine où l'on trouve une activité histidyl aminopeptidasique positive et à la 34e semaine où dans deux cas de souffrance foetale aigue les taux sont bas.

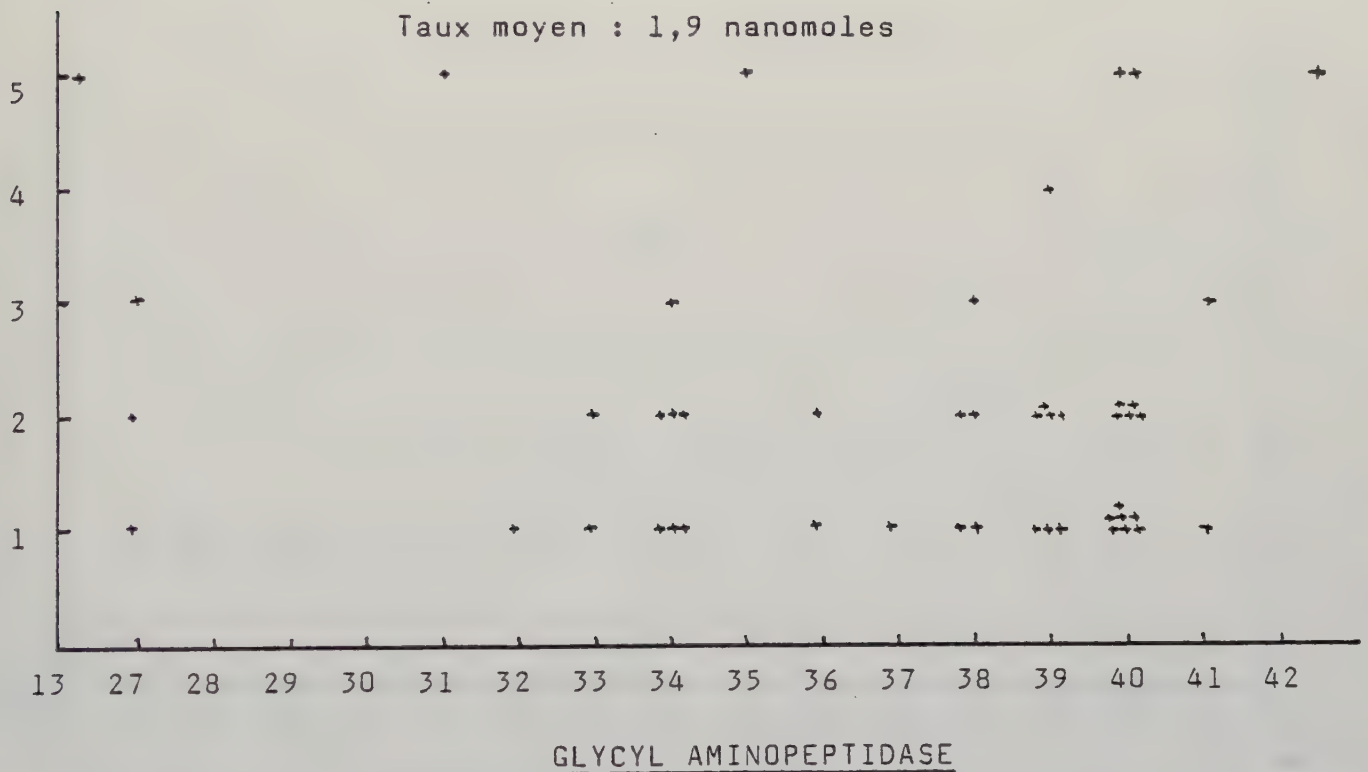


X - GLYCYL AMINOPEPTIDASE

Tous les taux sont positifs avec toujours une activité élevée ou au contraire basse dans les mêmes liquides :

- activité élevée : souffrance foetale, terme dépassé, liquide méconial

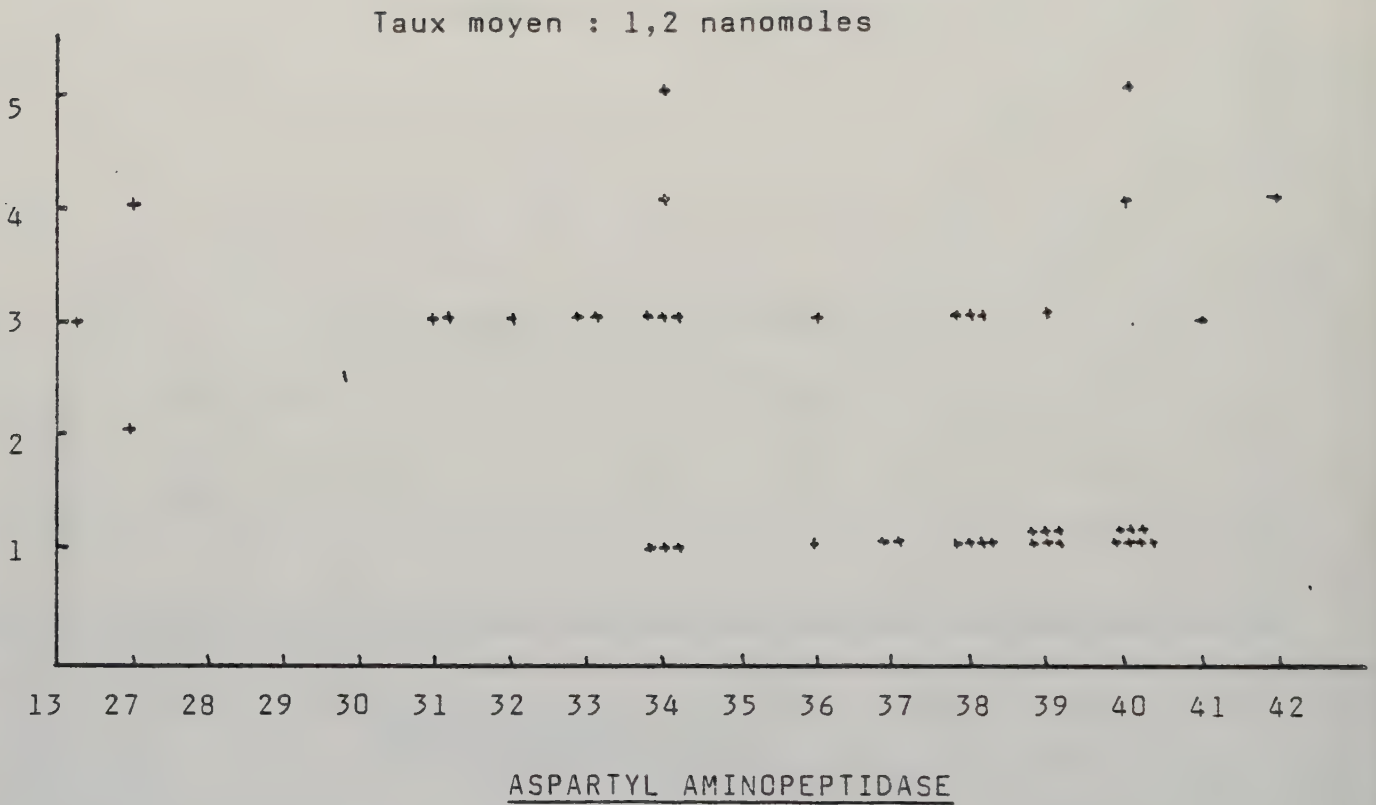
- activité basse : iso-immunisation rhésus, cébocéphalie, Kleihauer positif.



XI - ASPARTYL AMINOPEPTIDASE

Trois taux sont négatifs dans des liquides prélevés au moment de l'accouchement. Ceci n'est pas très significatif car les activités sont d'une manière générale assez basses quelle que soit la période de la gestation.

Moyennant quoi il existe cependant des cas pathologiques où les activités sont très élevées. On retrouve toujours les mêmes causes précédemment. Il en est de même pour les taux négatifs.

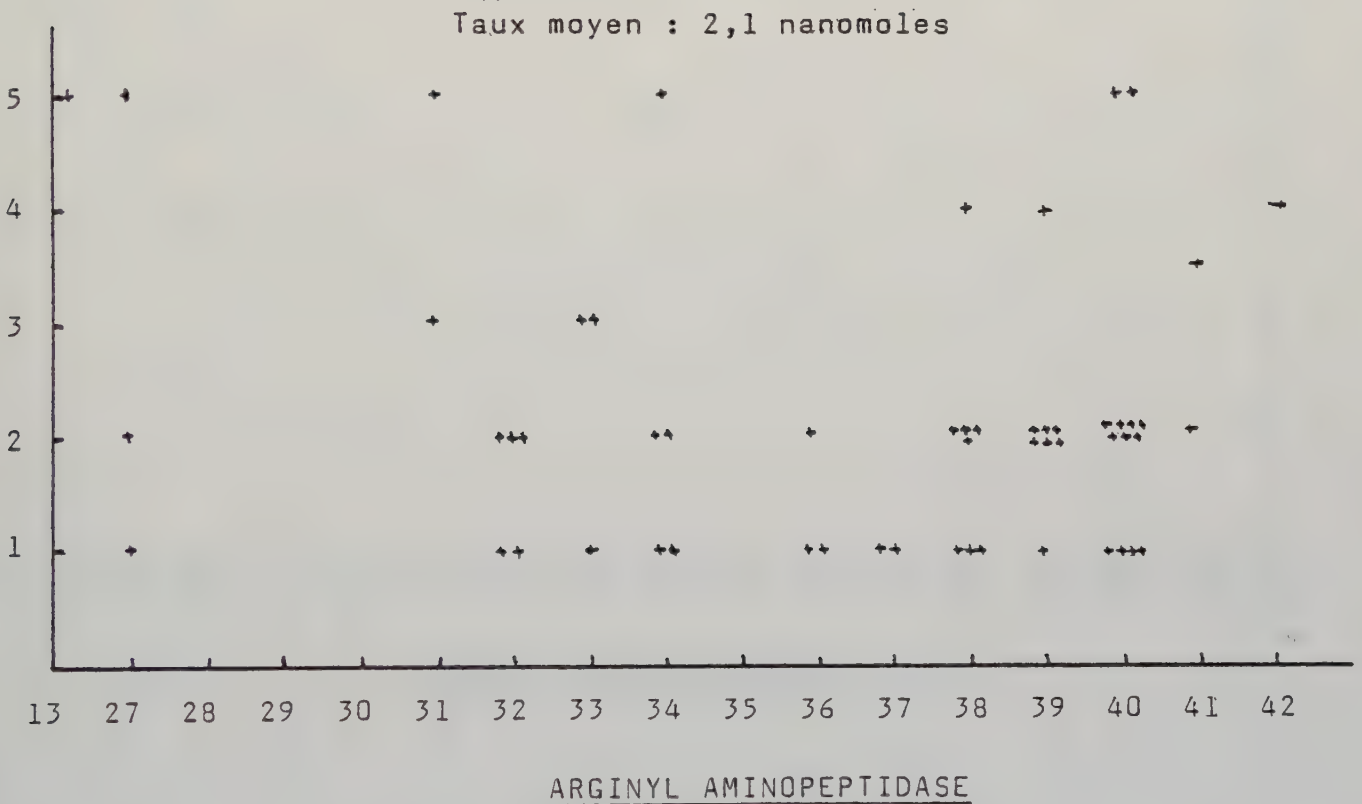


XII - ARGINYL AMINOPEPTIDASE

L'étude de cette activité est très intéressante, d'une part parce que tous les liquides ont des taux positifs et d'autre part surtout parce que dans toutes les grossesses pathologiques il y a des différences très significatives avec les liquides normaux.

Tous les liquides méconiaux, les hydramnios (sauf un), toutes les souffrances fœtales ont une activité intense.

Par contre les autres liquides pathologiques (iso-immunisation rhésus, cébocéphalie) ont eux une activité nettement plus basse que la moyenne.

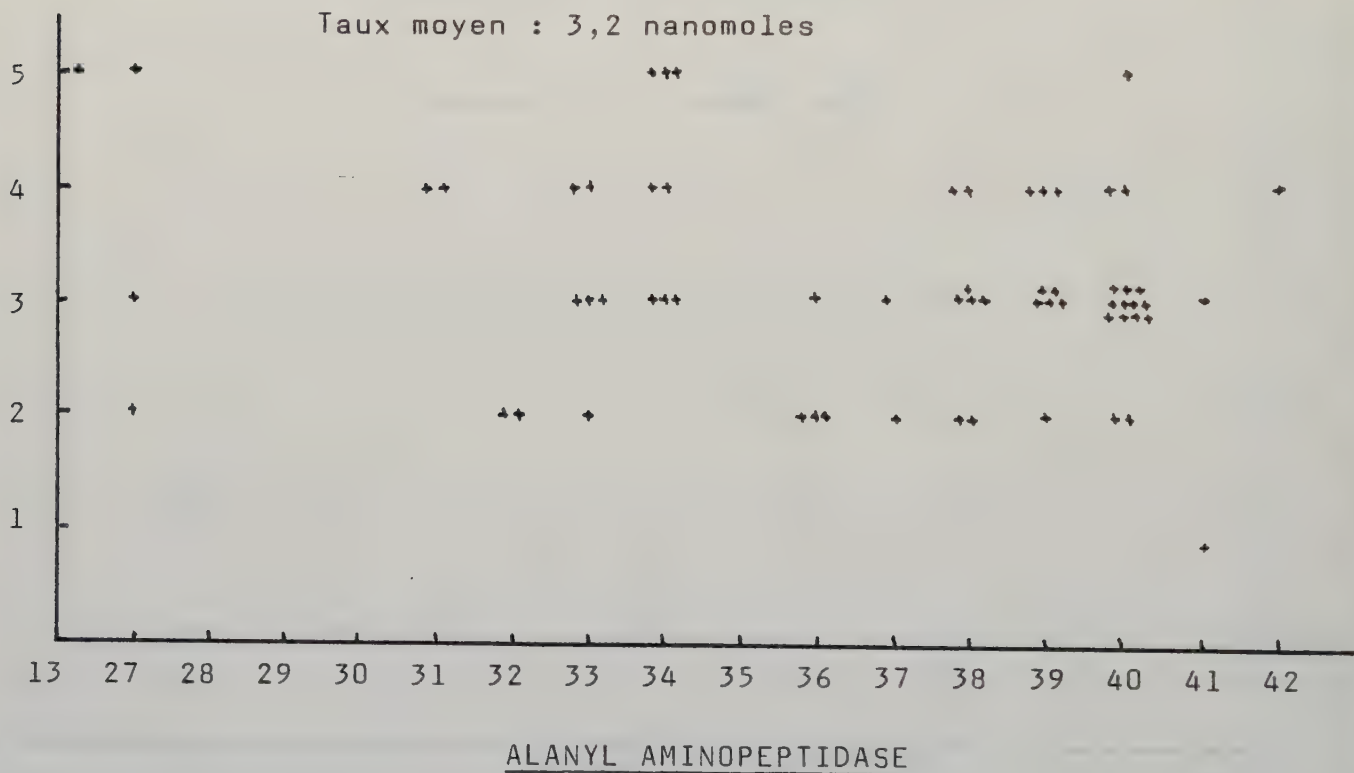


XIII - ALANYL AMINOPEPTIDASE

Le diagramme est assez superposable avec le précédent mais il y a un décalage de la moyenne générale (environ 20 nanomoles au lieu de 10 précédemment).

Il existe quelques différences cependant :

- il n'existe pas d'activité à la 13e semaine
- les taux trouvés bas dans XII le sont moins ici
- l'hydramnios avec macrocéphalie (36e SR) dont le taux était faible a ici une activité maximum
- une grossesse arrêtée à la 34e semaine à un taux plus élevé



XIV - GLUTAMYL AMINOPEPTIDASE

Il semble ici, que contrairement aux autres aminopeptidases étudiées dont les taux semblaient constants pendant la grossesse,

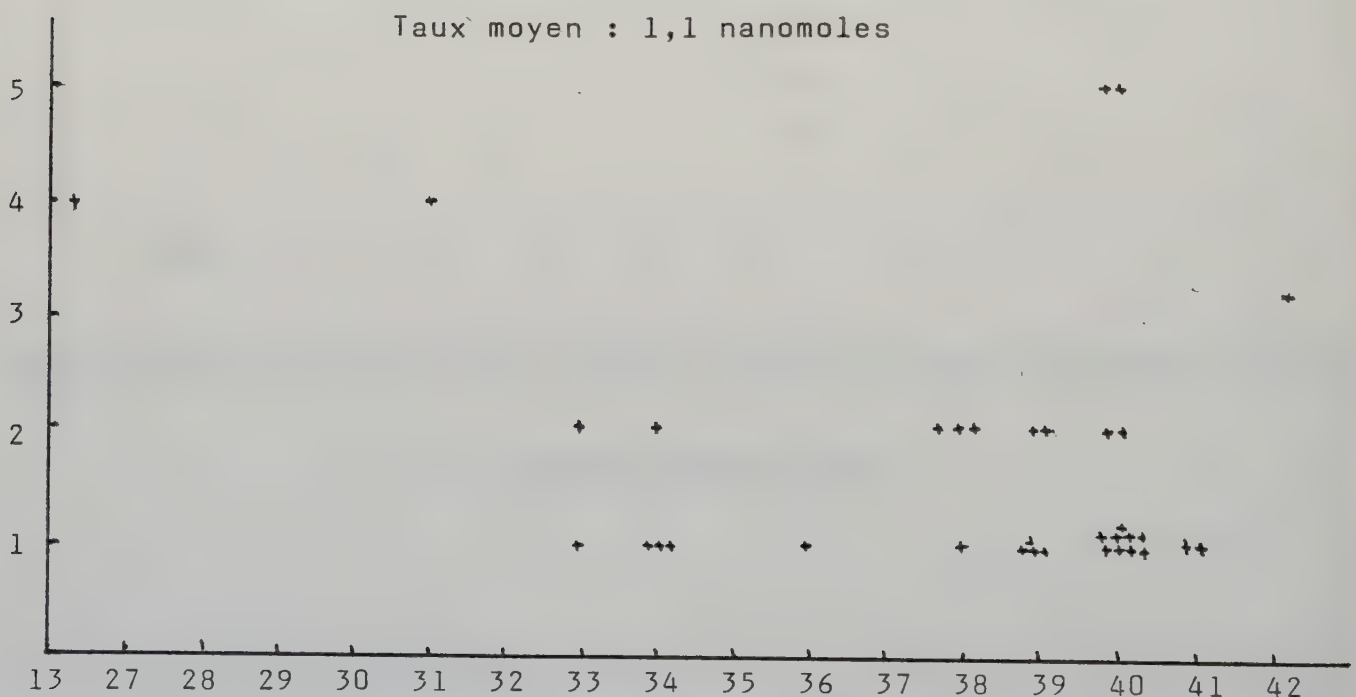
rhésus. Nous avons aussi trouvé des traces dans un liquide chez une femme présentant une hypertension artérielle.

XVI - S-BENZOYL - L-CYSTEINE AMINOPEPTIDASE

Les taux ne sont pas constamment positifs. Entre la 13e semaine où une activité fortement positive est rencontrée et la 31e semaine, tout est négatif. Avant l'accouchement les seuls liquides ayant une réponse positive sont ceux franchement pathologiques.

En cas de liquide méconial ou de terme dépassé, les taux sont nettement augmentés par rapport à la moyenne.

La présence de cette activité enzymatique semble, lorsqu'elle est très élevée au moment du terme, signifier un certain degré de souffrance foetale, et en dehors de cette période une souffrance certaine



XVII - N-GLUTARYL - L-PHENYLALANINE AMINOPEPTIDASE

Elle est présente en quantité importante dans tous les liquides (moyenne environ 20 nanomoles).

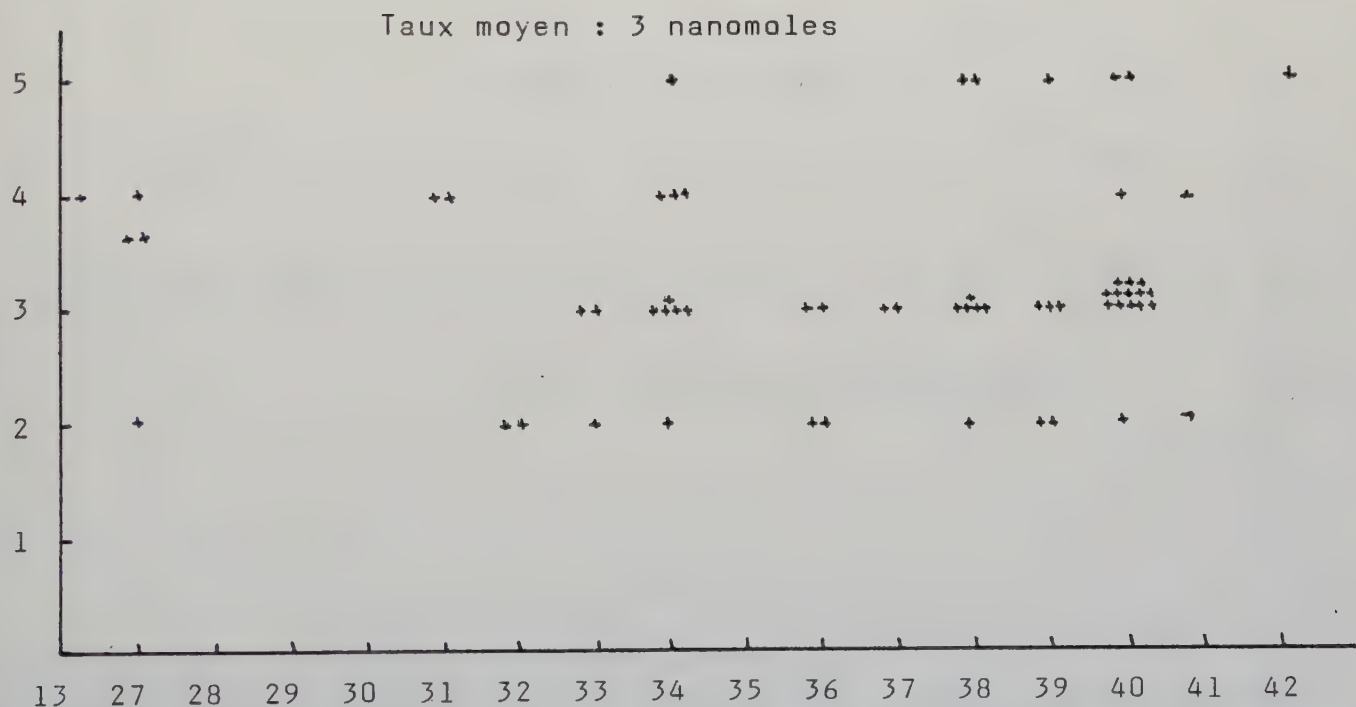
Encore une fois on retrouve les mêmes taux élevés avec en plus trois liquides prélevés au moment de l'accouchement : leur activité est analogue à celle des liquides méconiaux :

- pour l'un d'entre eux les autres activités aminopeptidasiques sont normales

- pour un second quelques autres activités sont aussi élevées

- pour le troisième, de nombreuses activités, comme nous le verrons par la suite, sont très perturbées.

Y a-t-il eu une réaction de l'enfant pendant l'accouchement ? Ceci est impossible à affirmer mais en tout cas, l'examen clinique des enfants était normal à la naissance.



N-GLUTARYL - L-PHENYLALANINE AMINOPEPTIDASE

XVIII - DL METHIONINE AMINOPEPTIDASE

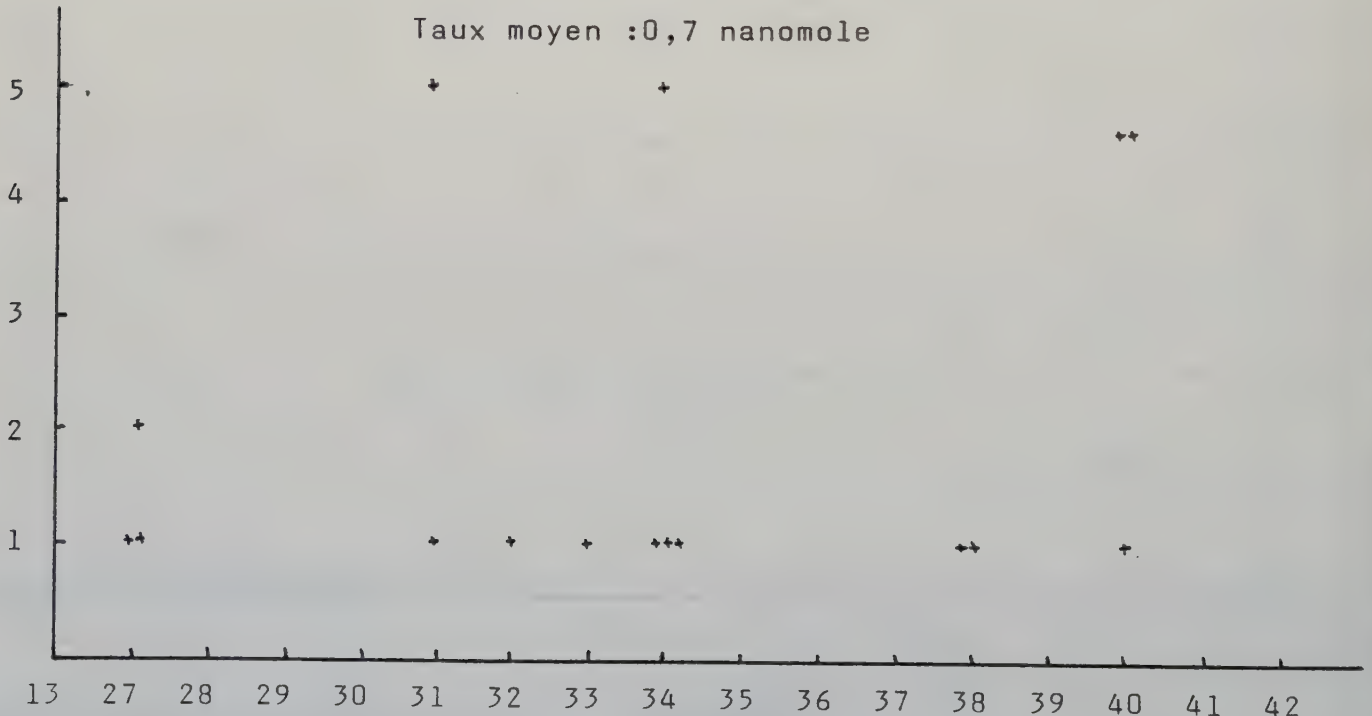
Les taux sont très importants (13/66) surtout en fin de grossesse normale.

Les trois liquides ayant une activité intra-partum provenaient dans deux cas d'accouchements survenus à la 38e semaine (le poids des enfants était de 2 kg 540 et 2 kg 630), et dans le troisième cas d'un accouchement à la 40e semaine (3 kg 550).

Les liquides méconiaux ont à terme une activité maximale (supérieure à 30 nanomoles). En cas de terme dépassé les taux sont négatifs.

Tous les liquides trouvés positifs au cours de la grossesse traduisaient l'existence d'une souffrance foetale aigue ou chronique.

L'existence d'un taux positif au moment de l'accouchement signifie-t-il une réaction de l'enfant ? Aucune réponse ne peut être apportée mais l'on remarque que dans deux cas il s'agissait d'enfants de faible poids (les trois cas ne sont pas les mêmes que dans XVII).

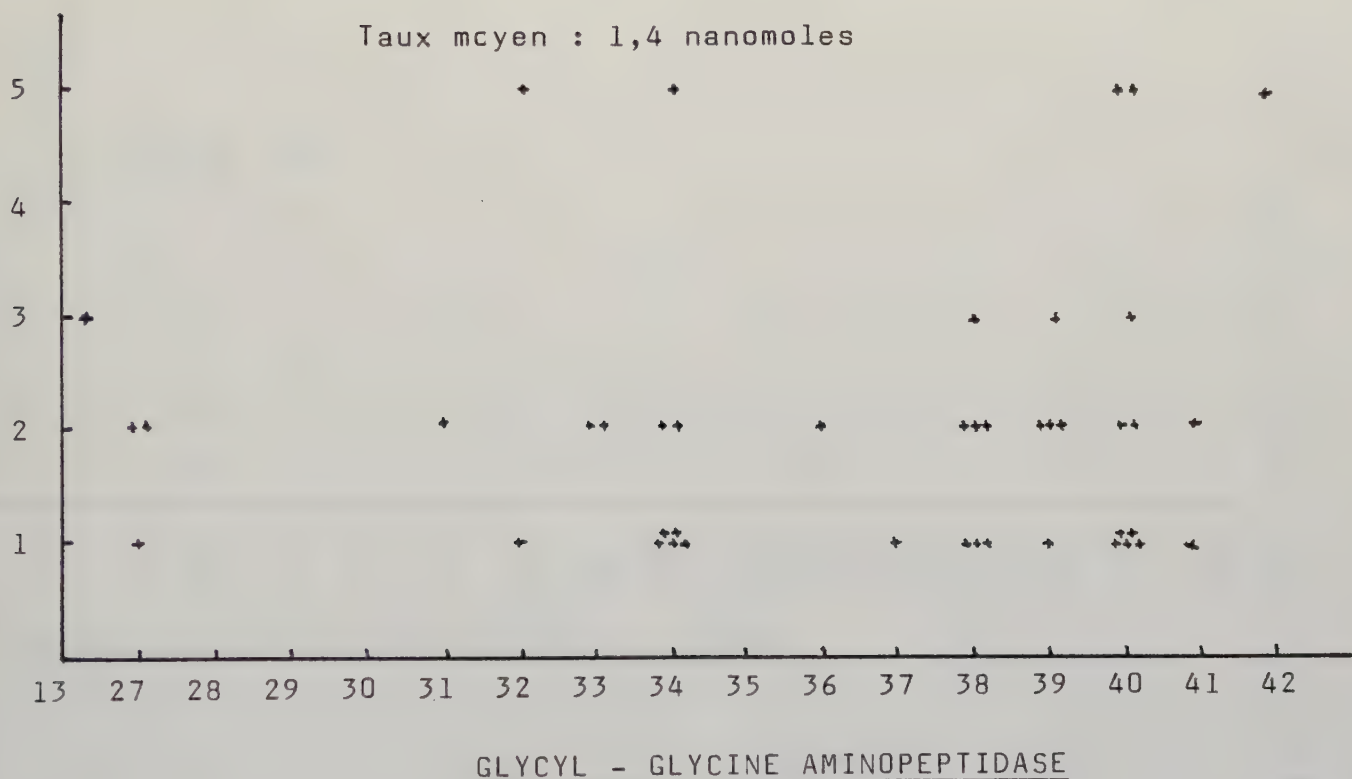


DL METHIONINE AMINOPEPTIDASE

XIX - GLYCYL - GLYCINE AMINOPEPTIDASE

La moyenne semble assez stable à partir de la 27e semaine (taux déjà positif à la 13e semaine). Les taux sont cependant inconstamment positifs sans qu'il soit possible de rattacher cette négativité à une cause unique : il s'agit aussi bien de grossesses normales à terme que de grossesses pathologiques.

On peut seulement noter que les taux élevés signent toujours une souffrance foetale, notamment en cas de terme dépassé.

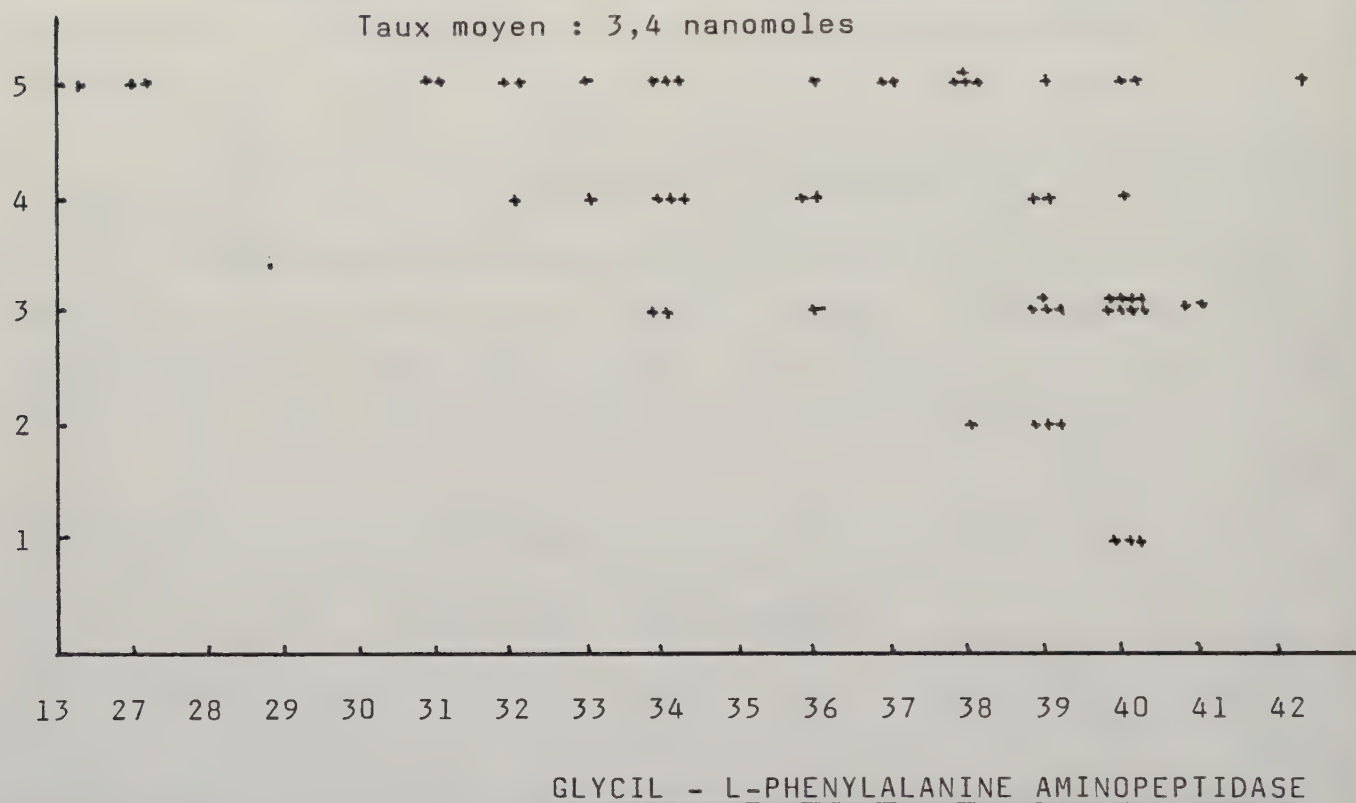


XX - GLYCYL - L-PHENYLALANINE AMINOPEPTIDASE

L'activité est très importante pendant toute la grossesse avec, semble-t-il diminution à l'approche du terme.

Dans un seul liquide aucune activité n'est retrouvée (il s'agit d'un liquide prélevé lors d'un accouchement normal à la 39e semaine).

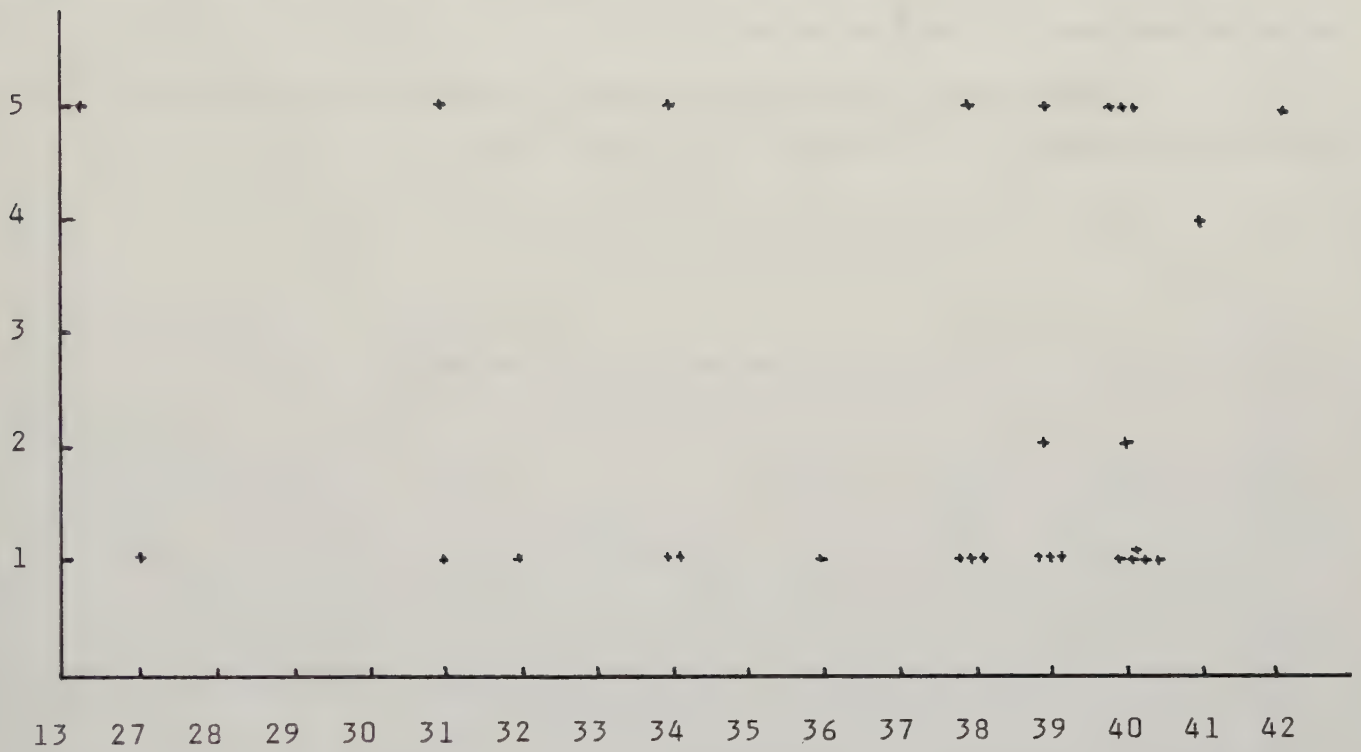
Il ne semble y avoir donc aucune différence entre les liquides prélevés au cours de grossesses normales et ceux provenant de grossesses pathologiques.



XXI - GLYCYL - L-PROLYL AMINOPEPTIDASE

Les taux sont inconstants et assez bas d'une manière générale pendant la grossesse. Les taux élevés sont toujours rencontrés dans les mêmes cas avec en plus trois liquides apparemment normaux. Ceux-ci ont

été prélevés au cours d'accouchements.

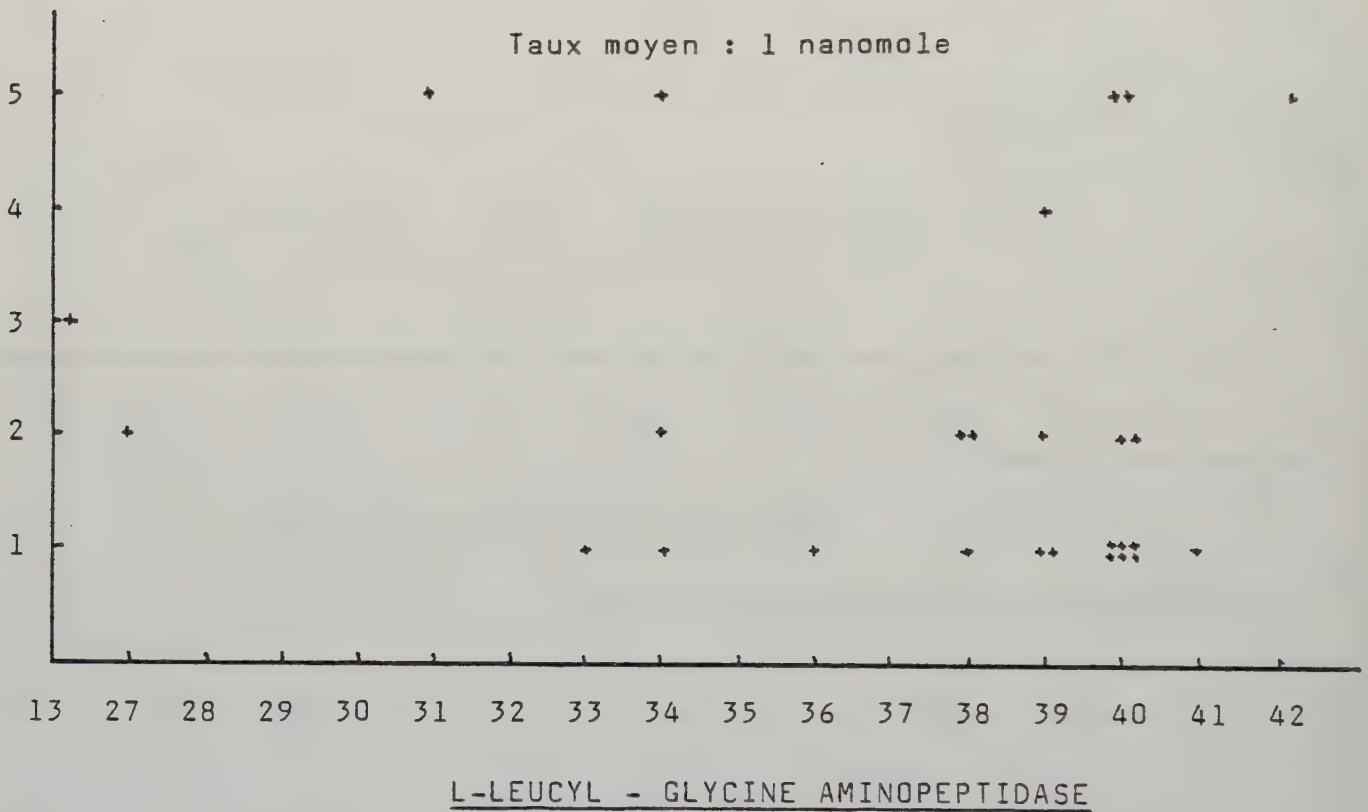


GLYCYL-L-PROLYL-AMINOPEPTIDASE

XXII - L-LEUCYL - GLYCINE AMINOPEPTIDASE

Les taux sont inconstamment retrouvés pendant la grossesse, mais il semble que la fréquence d'activité positive soit proportionnellement plus élevée en fin de gestation.

On rencontre toujours les mêmes augmentations que pour les autres aminopeptidases.



XXIII - L-SERYL - L-TYROSINE AMINOPEPTIDASE

Quatre taux sont très positifs :

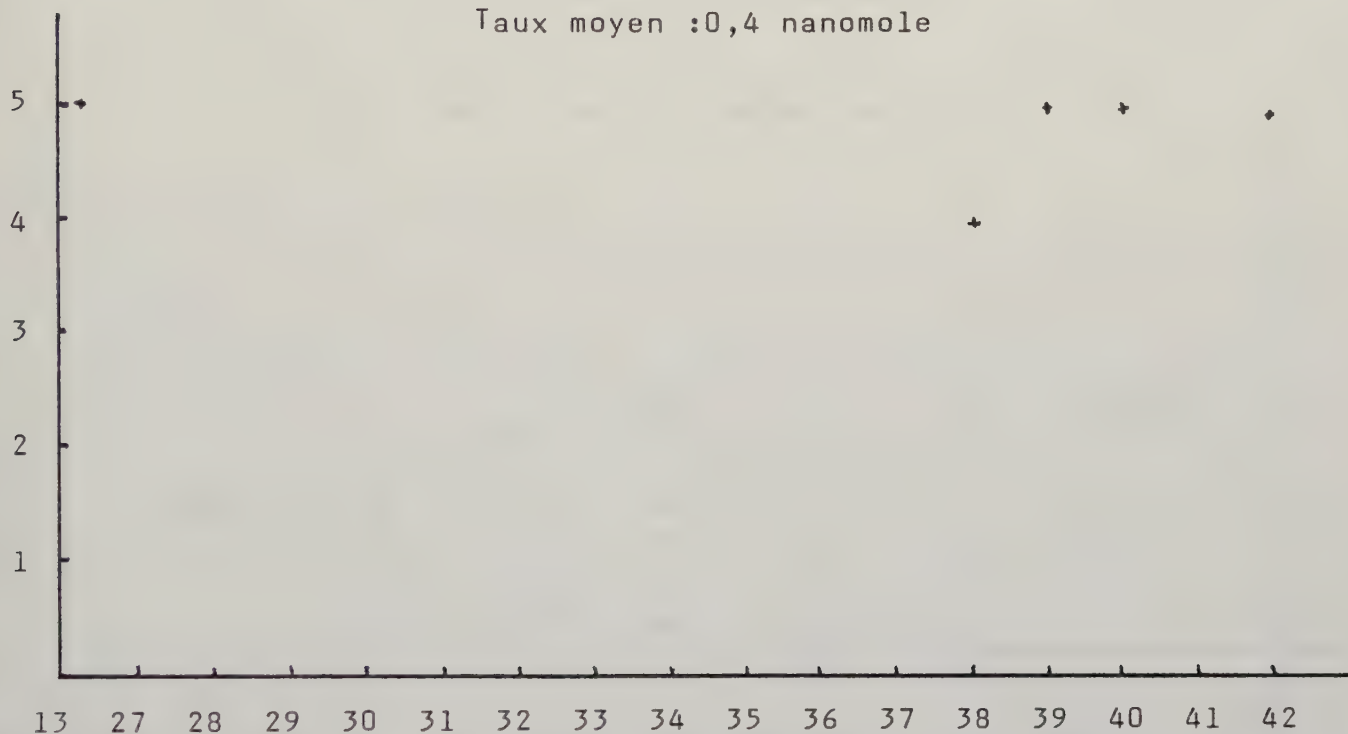
- un à la 18e semaine (grossesse arrêtée)

- deux au cours d'accouchements normaux

- le dernier dans un terme dépassé. Il serait intéressant de connaître pourquoi dans ces cas précis notamment dans la post-maturité cette augmentation se produit.

A noter que le méconium n'en contient que de petites quantités.

Taux moyen : 0,4 nanomole



L-SERYL - L-TYROSINE AMINOPEPTIDASE

XXIV - N CBZ - L-ARGININE AMINOPEPTIDASE

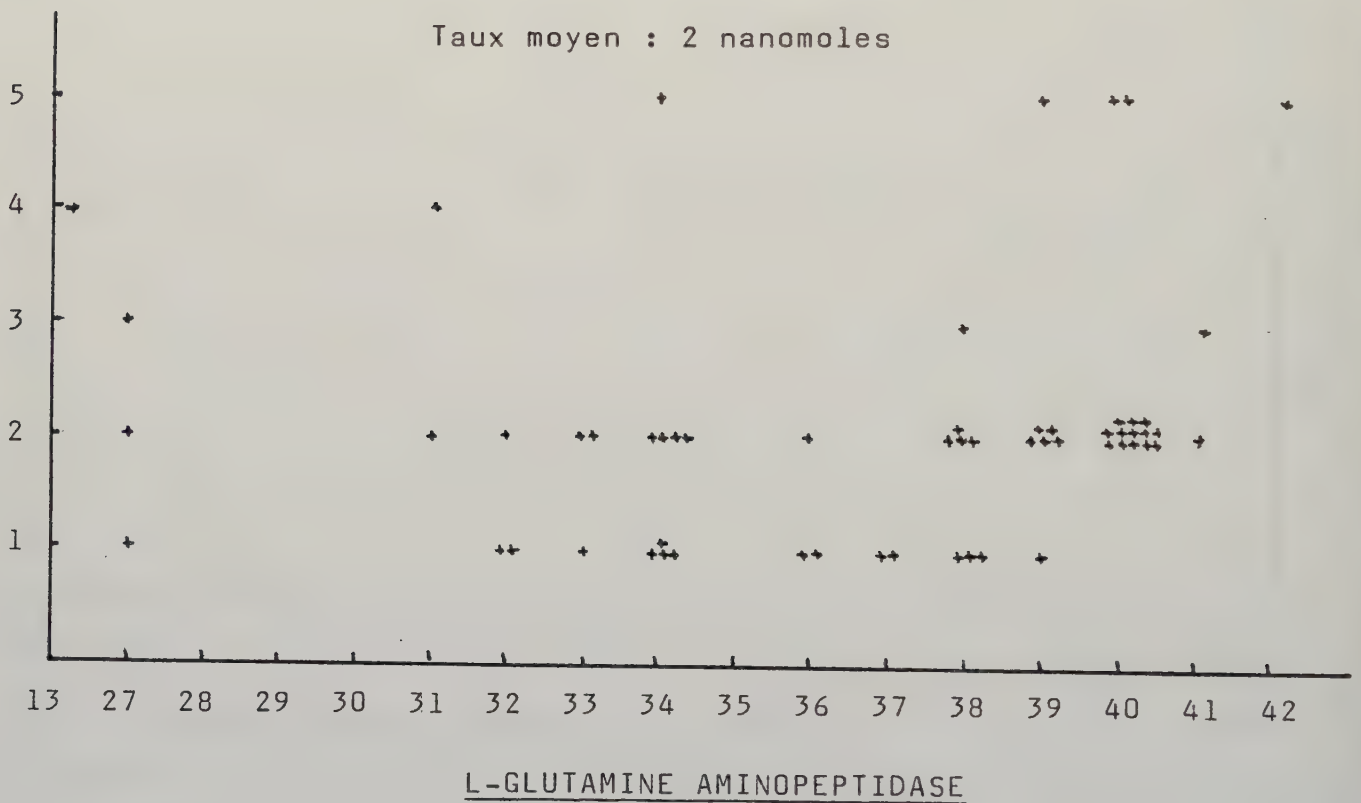
Aucune activité n'est rencontrée dans nos liquides.

XXV - L-GLUTAMINE AMINOPEPTIDASE

La moyenne des taux est assez élevée et assez constante pendant la grossesse.

Deux taux sont négatifs à la 39e et à la 40e semaine théorique. Il s'agit de bilans de vitalité foetale.

Quant aux valeurs élevées, il s'agit toujours des liquides méconiaux, terme dépassé, mort foetale ...



XXVI - L-GLUTAMYL AMINOPEPTIDASE

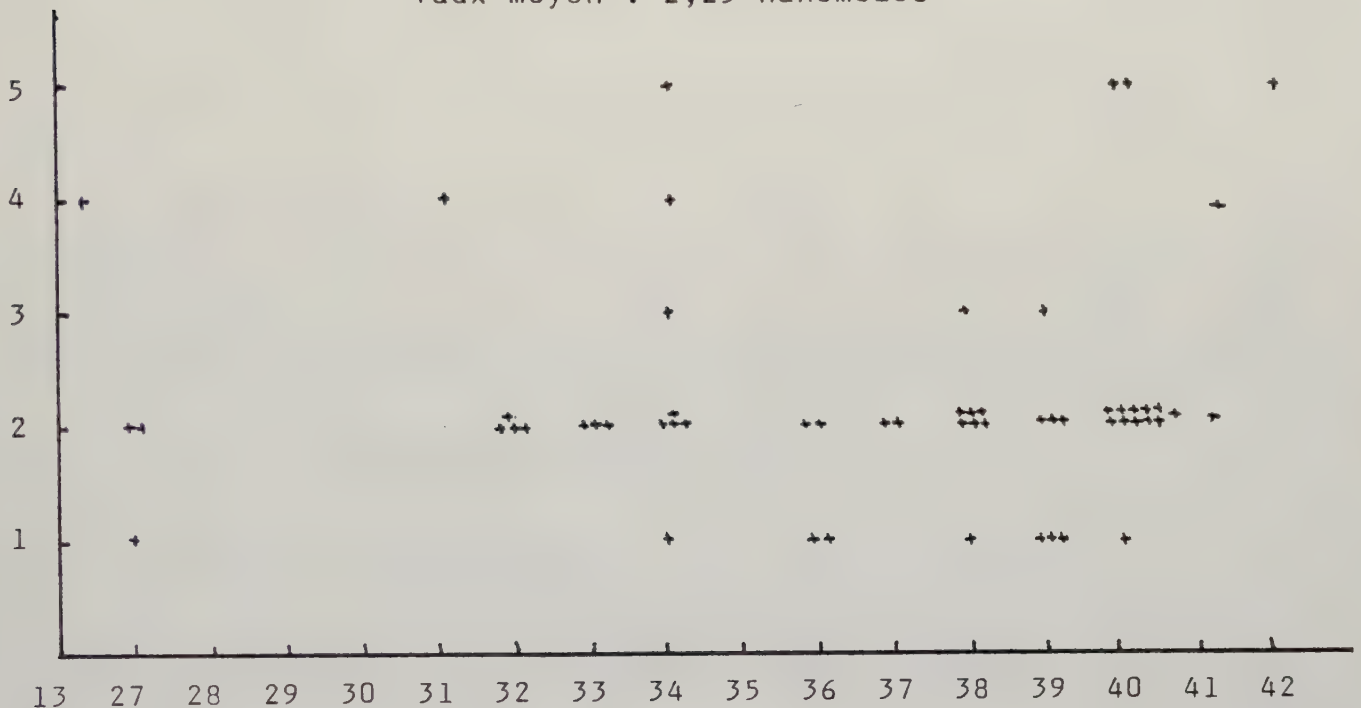
La moyenne est pratiquement superposable à l'activité précédente, mais les taux négatifs sont absents.

Les valeurs élevées sont cependant trouvées dans plus de liquide

anormaux : un terme dépassé et une autre souffrance foetale à la 34e semaine.

Ainsi donc si les deux activités enzymatiques sont assez proches l'une de l'autre, la L glutamyl semble plus sélective pour les liquides franchement pathologiques.

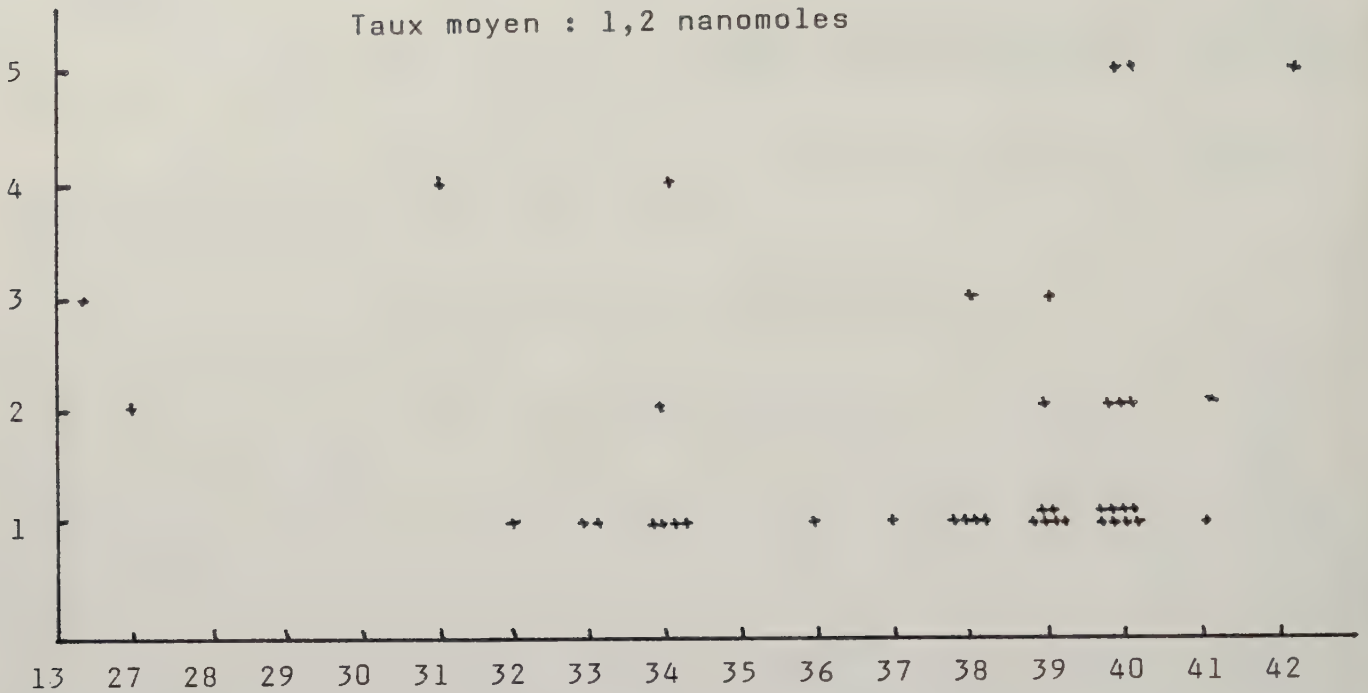
Taux moyen : 2,25 nanomoles



L-GLUTAMYL AMINOPEPTIDASE

XXVII - L-ISOLEUCINE AMINOPEPTIDASE

Les taux sont toujours positifs à l'approche du terme. Pour ce qui est des liquides prélevés par amniocentèse au cours de la grossesse, la présence est variable. Seuls sont positifs et encore à des taux moyennement élevés les liquides franchement pathologiques.



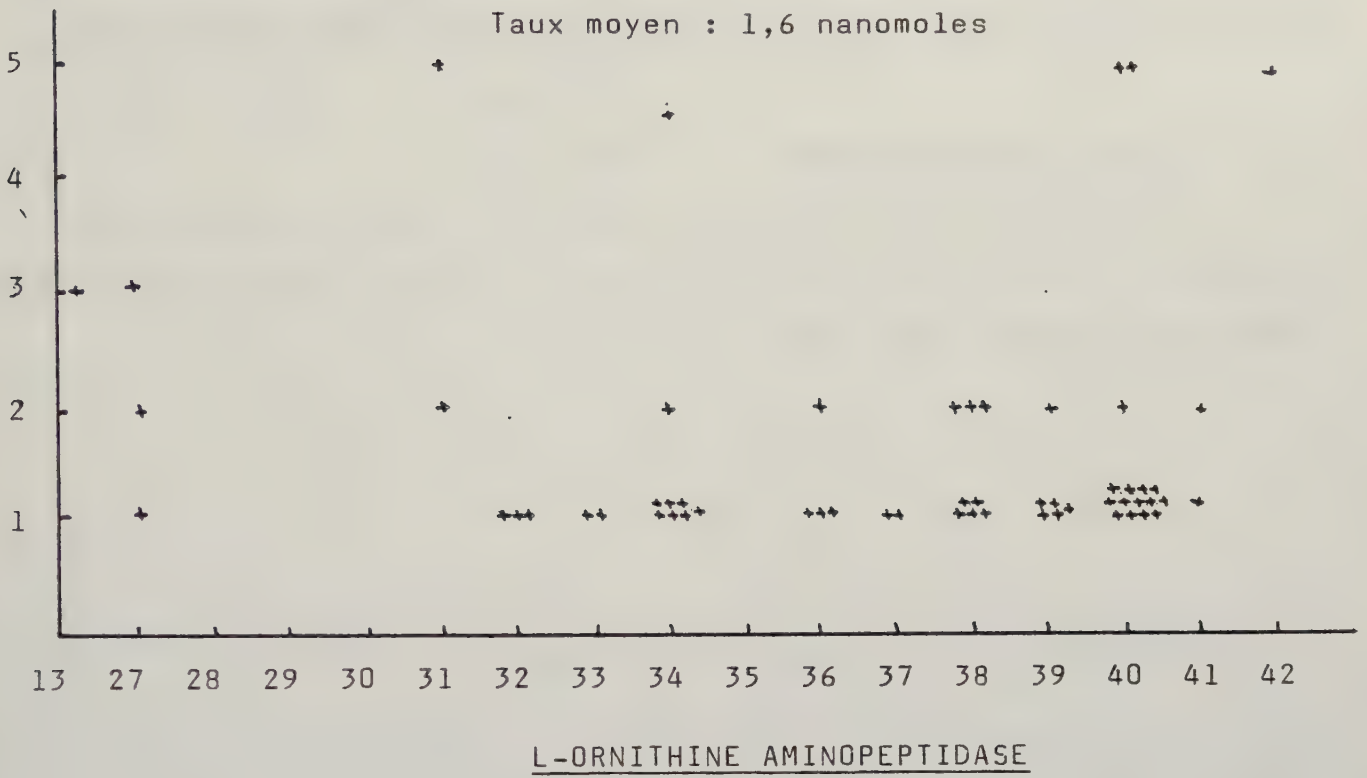
L-ISOLEUCINE AMINOPEPTIDASE

La présence de cette activité au moment de l'accouchement peut faire penser qu'elle se développe dans les grossesses normales, pendant le travail ou juste avant. Il faut ajouter cependant qu'en cas de terme dépassé le taux est élevé.

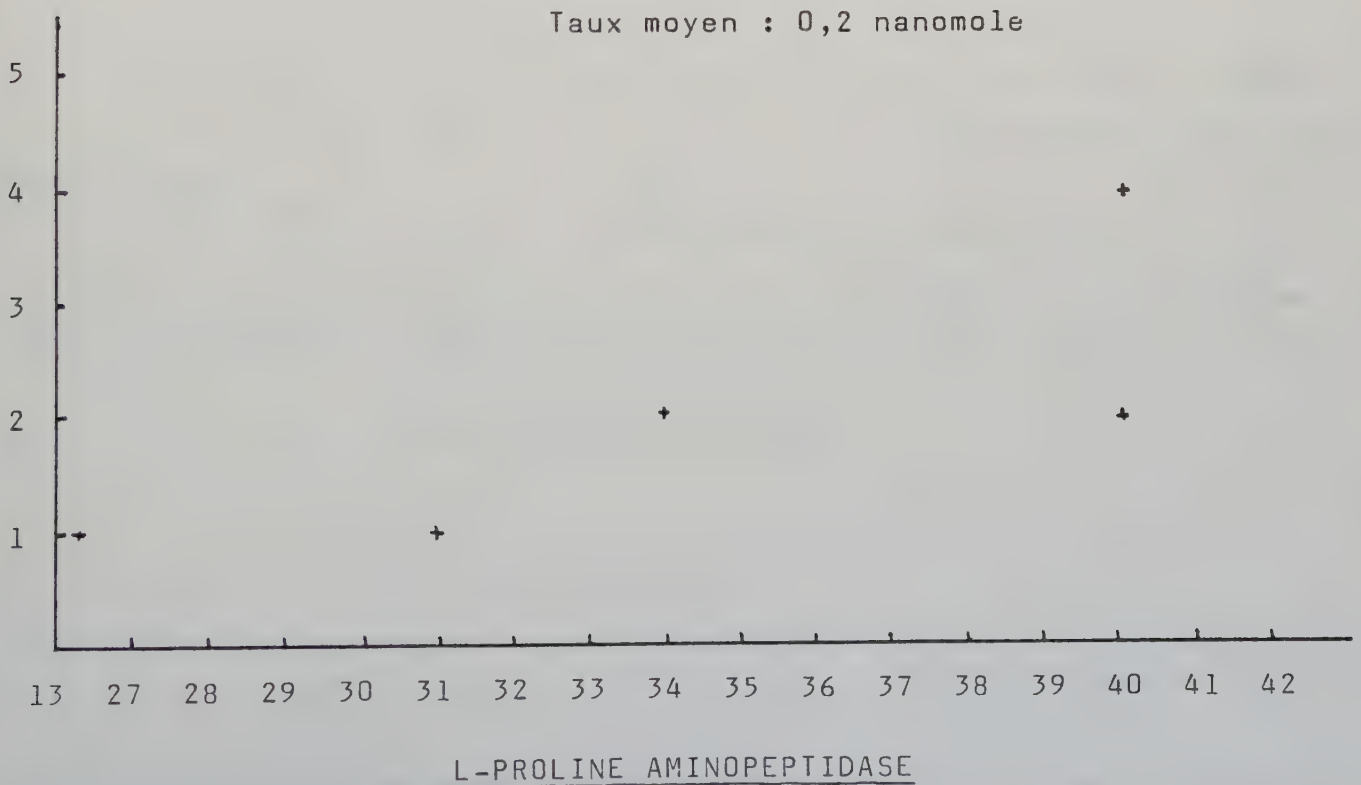
XXVIII - L-ORNITHINE AMINOPEPTIDASE

La présence de cette activité est rencontrée dans tous les liquides sauf dans deux iso-immunisations. Le taux moyen est un de ceux qui nous semble le plus constant pendant la grossesse. Les modifications se retrouvent dans deux souffrances foetales au cours de la gestation

et à la période du terme dans les liquides méconiaux et la post-maturité.



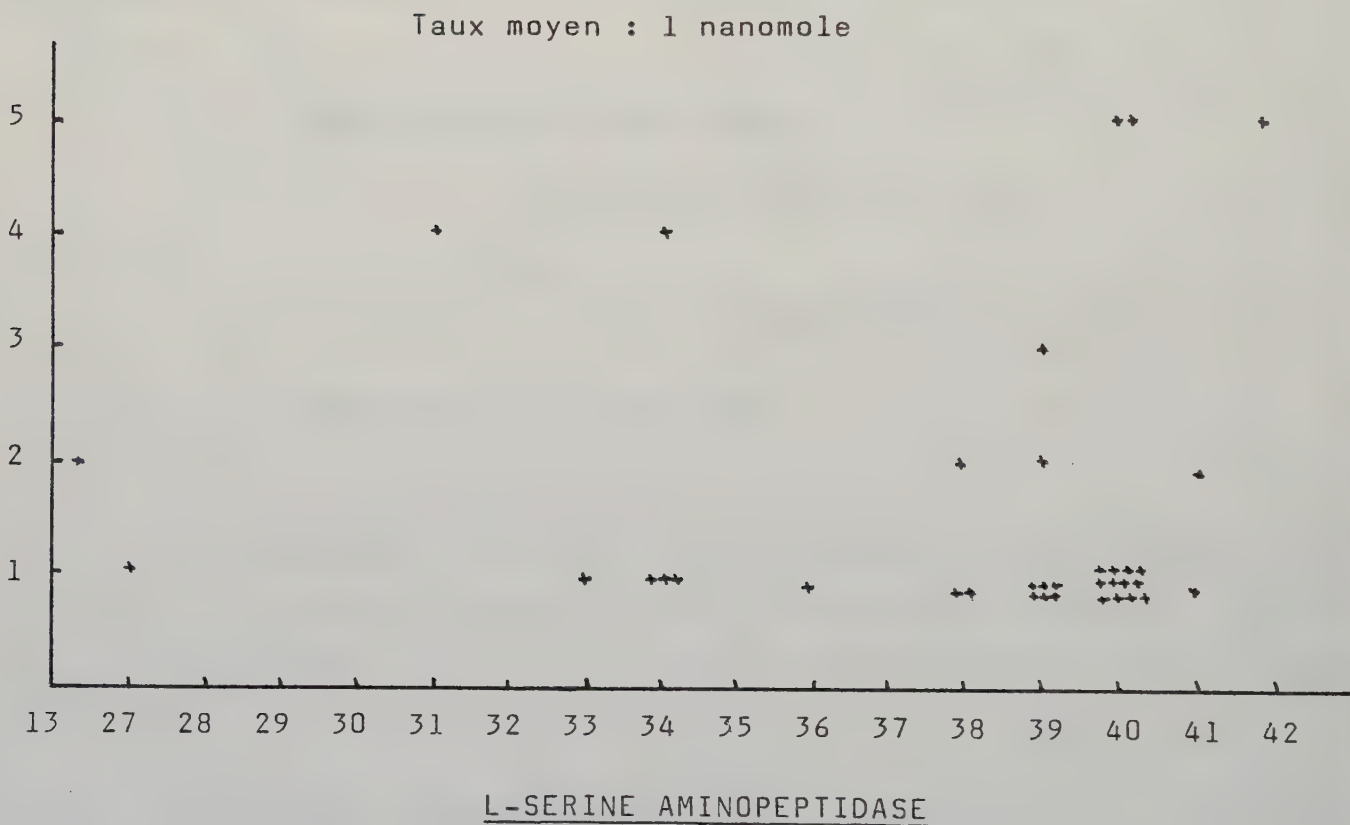
XXIX - L-PROLINE AMINOPEPTIDASE



Quatre taux positifs dans toute notre série. Il s'agit de liquides méconiaux, ce qui signifie que l'activité que l'on retrouve dans le méconium pur n'est pas inhibée dans le liquide amniotique.

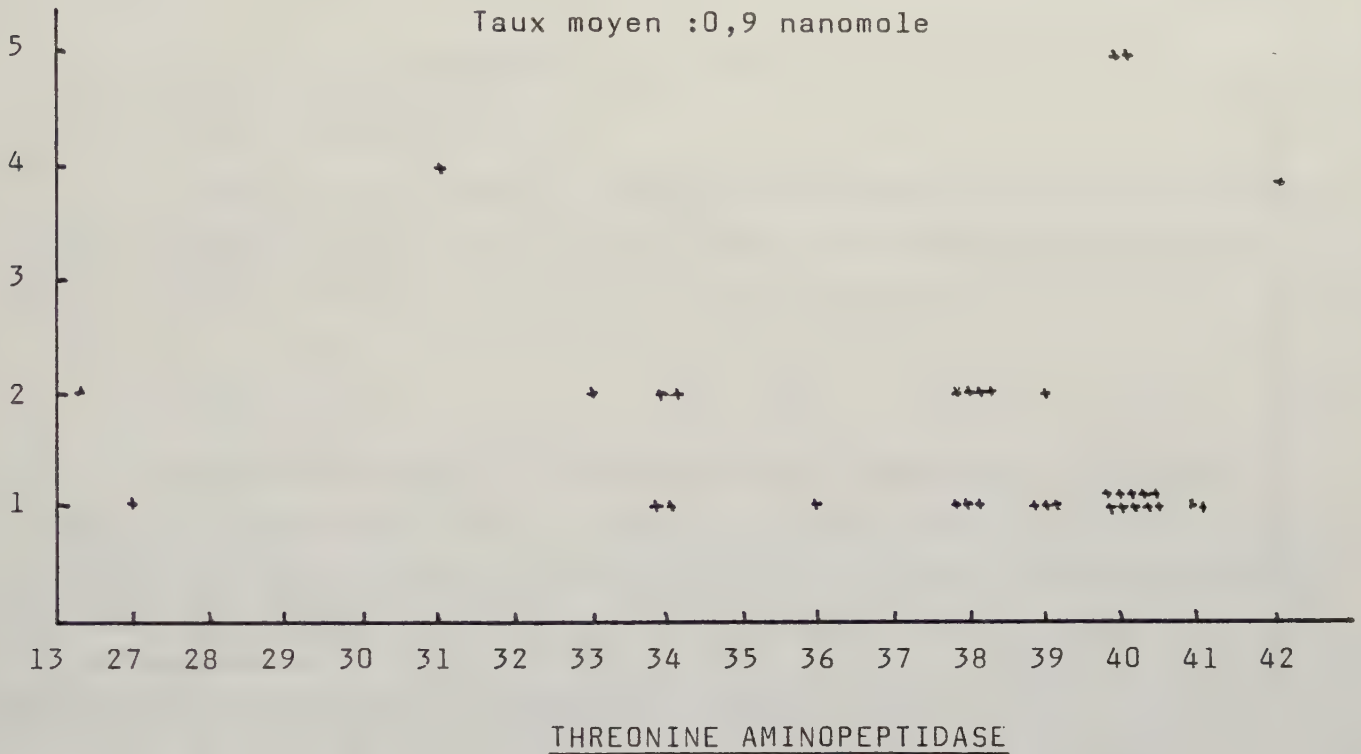
XXX - L-SERINE AMINOPEPTIDASE

L'activité est constante en fin de grossesse et rarement rencontrée avant la 34e semaine. Les modifications intéressent surtout encore les liquides méconiaux.



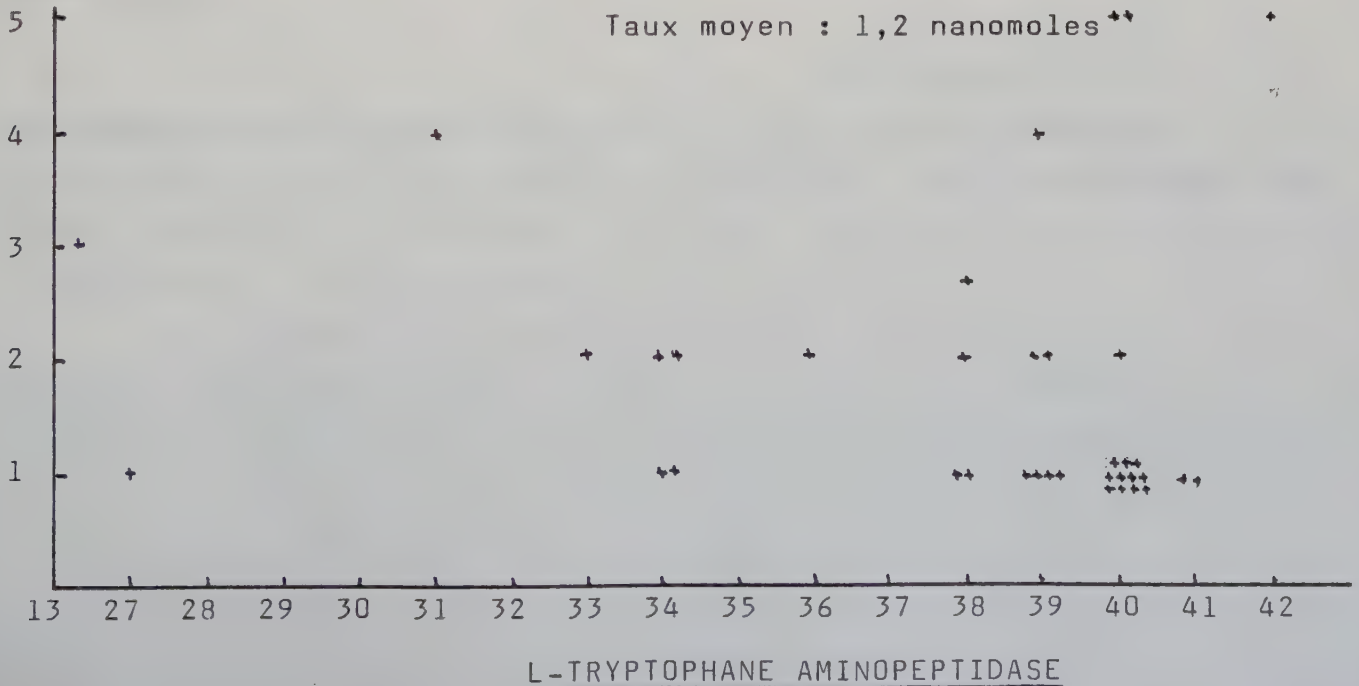
XXXI - THREONINE AMINOPEPTIDASE

Le diagramme a sensiblement la même allure avec celui précédemment décrit mais à une exception près, celle d'un liquide de souffrance foetale à la 34e semaine.



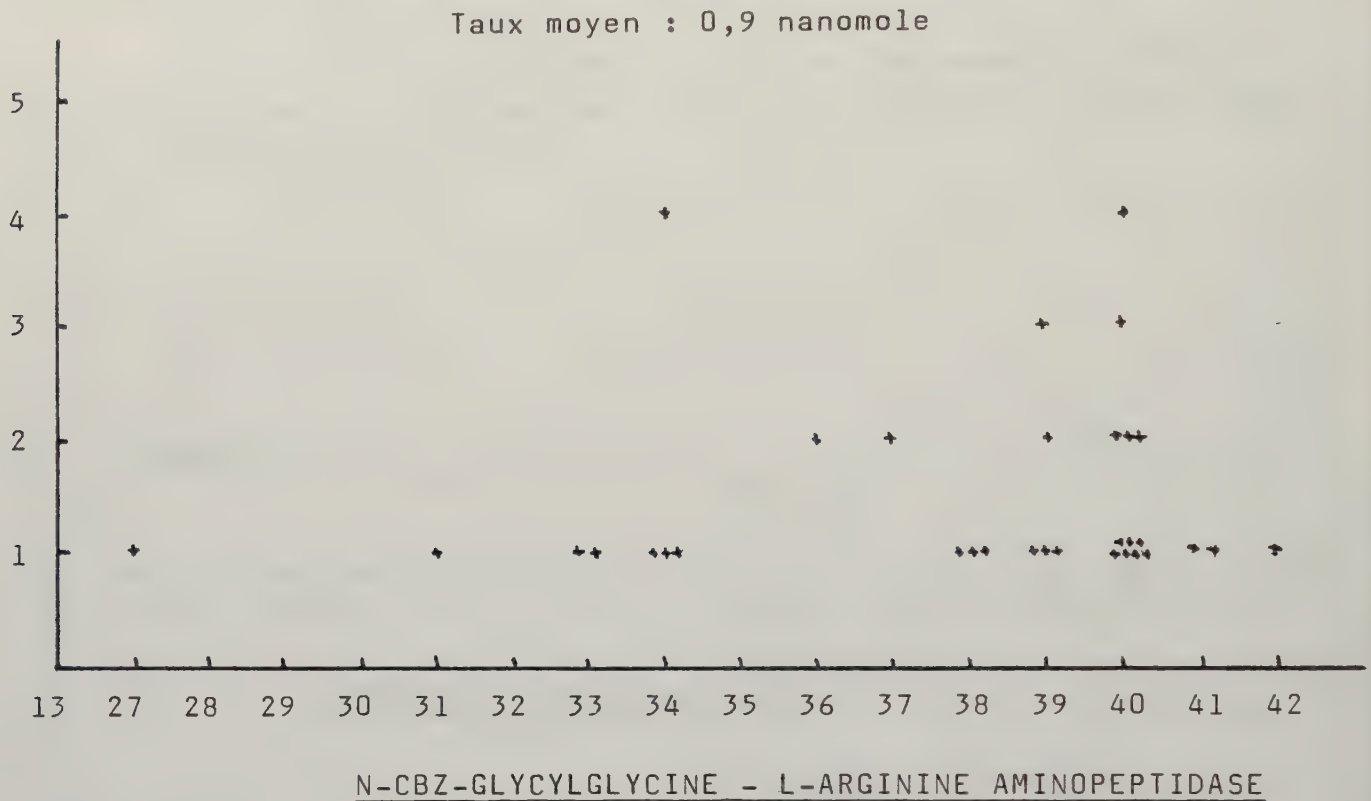
XXXII - L-TRYPTOPHANE AMINOPEPTIDASE

L'étude de cette activité est elle aussi très superposable aux précédentes et par conséquent ne nécessite pas une interprétation plus détaillée.



XXXIII - N-CBZ-GLYCYLGLYCINE - L-ARGININE AMINOPEPTIDASE

La remarque précédemment faite est aussi valable pour cette activité.



XXXIV - GUANINE DEAMINASE

Son taux qui est de 7,80 à 15 U/ml pendant le 3e trimestre augmente en cas de grossesse prolongée (TOSCHI et coll. -1968-).

PROTEINASES

I - PEPSINOGENE et PEPSINE

WAGNER (1958) détecte sa présence dans le liquide amniotique à partir du 8e mois de grossesse. Les taux sont plus élevés en cas d'érythroblastose et au contraire plus bas chez des patientes atteintes d'éclampsie.

II - TRYPSINE

La trypsine scinde la liaison peptidique dans laquelle est engagé le carboxyle d'un aminoacide basique : arginine ou lysine, mais pas celui de l'histidine. Outre son action protéinase, elle possède des fonctions estérasique et amidasique. Normalement le liquide amniotique ne contient pas de trypsine qui selon ABE est sécrétée par l'intestin du fœtus. Ceci explique que l'on puisse la rencontrer dans les liquides méconiaux (ALBRESHTSEN et TROLLE -1955-).

Nous avons rencontré sa présence dans un seul liquide à la 34e semaine. Il s'agissait d'une iso-immunisation rhésus. Une autre analyse de ce même liquide à 37^e semaines n'a pas confirmé cette présence.

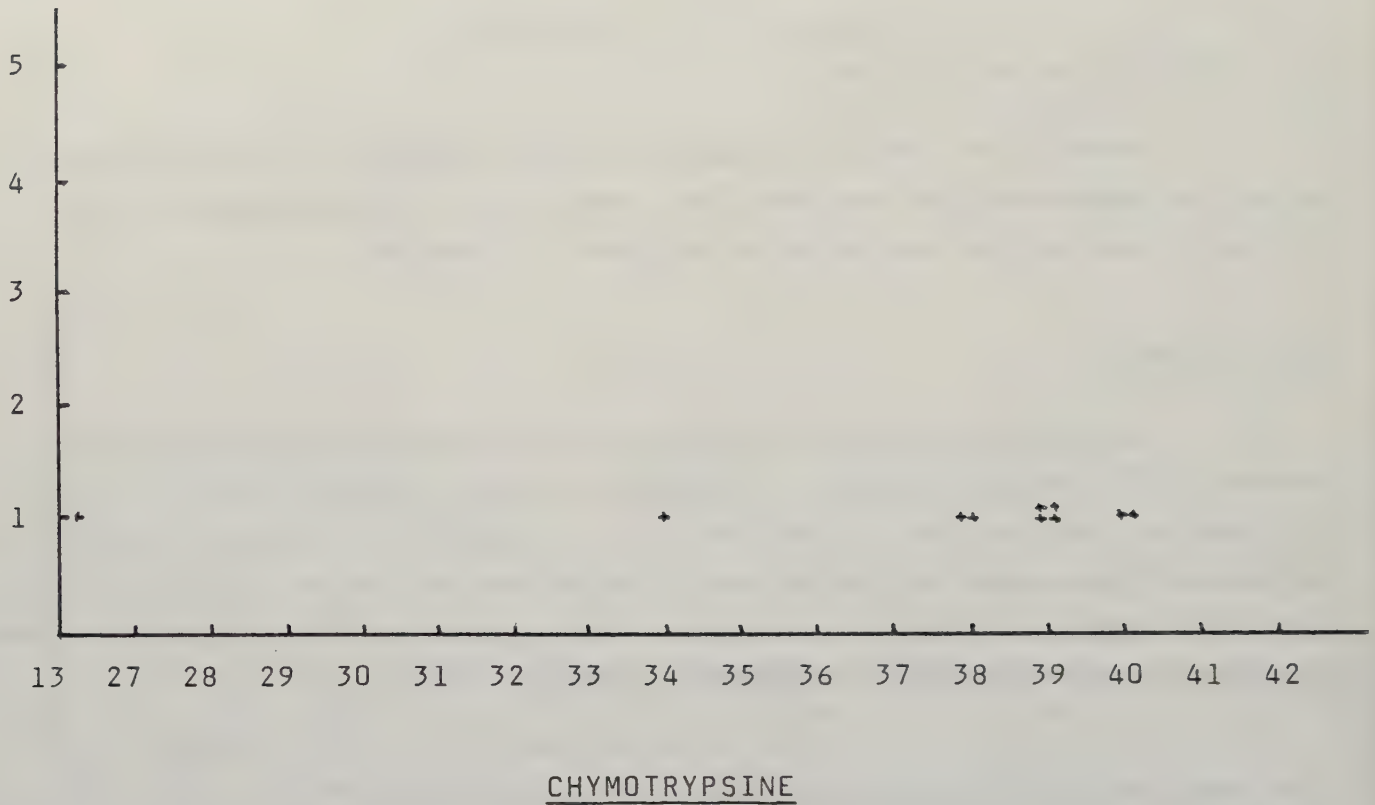
Contrairement à ce qui est dit dans la littérature, les taux dans nos liquides méconiaux sont toujours négatifs.

III - CHYMOTRYPSINE

Elle coupe la liaison peptidique dans laquelle est engagé le carboxyle d'un aminoacide aromatique : phénylalanine, tyrosine et même tryptophane. Comme la trypsine elle manifeste une action endopeptidasique, amidasique, estérasique, mais peut également jouer le rôle d'une exopeptidase. (aminopeptidase).

La chymotrypsine est inconstamment rencontrée, mais toujours dans des liquides prélevés au moment du travail. Il semblerait donc que l'organisme fœtal, juste avant sa naissance, met en route sa production

ou du moins la libère hors de lui-même.



IV - RENINE

Angiotensinogène $\longrightarrow$ Angiotensine I

Dans le sérum son taux augmente progressivement pendant la grossesse et au cours du 3e trimestre il serait identique à celui trouvé pendant la phase lutéale du cycle.

D'après SKINNER et coll. (1968), l'origine serait chorale.

Son taux augmenterait considérablement lors des toxémies gravidiques. Dans certains liquides pathologiques DAY et coll. (1975) a mis en évidence une rénine de poids moléculaire supérieure à la rénine normale. Elle serait responsable de l'hypertension artérielle chez les enfants atteints de tumeur de WILMS.

V - THROMBOKINASE

Prothrombine $\longrightarrow$ thrombine

Il en existerait deux différentes : - une thermolabile
- une thermostable

Leur taux dans le liquide amniotique serait variable pendant la grossesse et leur origine est discutée : placenta, caduque, myomètre.

VI. - CETO ACIDES-DECARBOXYLASE

L'absence de cette enzyme est responsable de la leucinose ou "maladie des urines à odeur de sirop d'érable".

Elle a pour rôle de décarboxyler les acides cétoniques. ELSAS et coll. (1974) ont étudié cette enzyme sur des cultures cellulaires.

LYASE

I - ALDOLASE

Cette enzyme joue un rôle très important dans la glycolyse. ANTONIONI et coll. (1957) montrent les premiers que le taux du liquide amniotique est supérieur à celui du sérum maternel ou foetal. Son taux selon ZELNICEK et TOVAREK (1961) est de 1,50 micromoles/ml/heure. Il serait augmenté en cas d'iso-immunisation grave. Le taux trouvé par GALERNE est de 0,5 à 2 mU/ml.

II - ANHYDRASE CARBONIQUE



Son rôle est de maintenir la réserve alcaline dans le liquide amniotique (MORIN et coll. -1960-). Son origine est vraisemblablement l'épithélium amniotique.

Son taux est élevé dans la deuxième moitié de la grossesse (KRAUZE -1968-)

III - CYSTOTHIONINE SYNTHETASE

A été étudié par FLEISCHER et coll. (1974) sur des cultures cellulaires dans l'homocystinurie.

IV - HISTIDASE

MELANCON (1971) a montré sa présence dans les cultures cellulaires de types épithéliales et ainsi envisagé le diagnostic in utéro de l'histidémie.

ISOMERASE

I - RIBOSE 5 PHOSPHATE - ISOMERASE

Selon ANTONIONI et coll. (1957) l'activité enzymatique est supérieure dans le liquide amniotique à celle du sérum maternel ou foetal.

II - PHOSPHOHEXOSE ISOMERASE

ANTONIONI et coll. arrivent aux mêmes conclusions que pour la ribose 5 P ; ceci est confirmé par LAPAN et coll. (1962) qui fixent la valeur moyenne à $89 \pm 54,9$ unités fructose.

Le taux est aussi très important dans le placenta, les hématies maternelles et foetales (BASTIDE et coll. -1962-).

En conclusion, cette étude du liquide amniotique nous a montré :

- il existe un très important équipement enzymatique
- il existe de profondes modifications des taux enzymatiques lorsqu'est présente une anomalie gravidique d'origine maternelle ou foetale. Ces modifications portent principalement sur les aminopeptidases qui selon les cas sont augmentées ou diminuées.
- le méconium est une source importante d'enzymes mais elle n'est pas la seule quand il existe une souffrance foetale.
- des variations quantitatives sont observées au cours de la grossesse ; certaines enzymes disparaissent même ce qui peut être intéressant pour fixer un âge gestationnel.

Maintenant que nous avons fait une étude analytique des 70 enzymes de notre série nous allons pouvoir étudier chaque liquide.

C H A P I T R E V

LIQUIDES AMNIOTIQUES

ZYMOGRAMME DES DIFFERENTS CAS ETUDIES

Après avoir étudié les différentes activités enzymatiques les unes à la suite des autres, nous allons établir les zymogrammes ou profils enzymatiques en analysant les différentes enzymes contenues dans un même liquide.

Etant donné que nous ne connaissons pas l'activité moyenne d'un liquide normal à chaque période de la grossesse, nous avons établi un profil de référence en calculant la somme totale de chaque activité enzymatique et en la divisant par le nombre de cas étudiés.

Ceci est très artificiel et sans doute inexact, mais il n'était pas possible de procéder autrement pour avoir un point de comparaison.

Nous n'allons pas analyser chaque liquide dans ce chapitre, mais regrouper les principaux cas pathologiques et présenter quelques liquides recueillis au moment de l'accouchement.

A - LIQUIDES PRELEVES INTRA PARTUM

Premier et second liquides - 58 - 60 -

Nous les regroupons tous les deux ensembles car l'aspect de leur zymogramme, à quelques petites différences près, est similaire. Le déroulement des grossesses et des accouchements a été normal. Les enfants pesaient respectivement 3 kg 550 et 2 kg 630. Nous avons choisi ces deux liquides au hasard mais les autres cas que nous avons étudiés ont sensiblement les mêmes caractéristiques.

Par rapport à notre profil de référence, ces liquides se distinguent par l'absence de quelques activités enzymatiques essentiellement la lipase (5) - ce qui est normal puisque nous sommes à terme - l'ocytocynase (8), la L-seryl-L-tyrosine (50) et la L-proline (56).

Les deux liquides se différencient essentiellement par la très forte activité D-glucose-6-phosphate (63) et 6-phosphogulconate (68) présente dans le premier.

Troisième liquide - 54 -

Nous avons retenu ce liquide car il se différenciait fortement par rapport aux autres. Il avait été noté pendant la grossesse de cette femme une albuminurie isolée. Le travail s'est déroulé normalement et l'état de l'enfant pesant 3 kg 550 à la naissance était satisfaisant.

On constate d'emblée une très forte activité aminopeptidasique (44 - 47 - 48 - 50 - 52). Par contre il y a absence de DL méthionine (45).

Nous ne pouvons expliquer ces augmentations enzymatiques mais il est possible qu'un certain degré de souffrance foetale non diagnostiqué pendant le travail en soit la cause ; nous n'avons jamais retrouvé le même profil durant l'accouchement.

	53		53		54
	54				
	55				
	56				
	57				
	58				
	59				
	60				
	61				
	62				
	63				
	64				
	65				
	66				
	67				
	68				
	69				
	70				
	71				
	72				
	73				
	74				
	75				
	76				
	77				
	78				
	79				
	80				
	81				
	82				
	83				
	84				
	85				
	86				
	87				
	88				
	89				
	90				
	91				
	92				
	93				
	94				
	95				
	96				
	97				
	98				
	99				
	100				

B - LIQUIDES MECONIAUX A TERME - 36 - 37 -

Il s'agit de deux grossesses dont le déroulement a été parfaitement normal. La découverte du liquide méconial a été faite au moment de la rupture artificielle des membranes. Aucune anomalie n'a été constatée au cours du travail ; l'état des enfants à la naissance était satisfaisant (3 kg 350 et 3 kg 400).

L'étude des zymogrammes montre une activité augmentée d'une manière générale par rapport à notre moyenne.

Cette augmentation porte principalement :

- sur toutes les aminopeptidases sauf la glutamyl aminopeptidase ; l'intensité de ces activités est superposable à celle du méconium pur.
- sur les phosphatases alcalines et acide, la phosphodiesterase.
- dans un liquide il y a présence de L-hydroxyprolyl aminopeptidase, ce qui est rare dans notre série (trois liquides seulement).

Inversement, certaines activités sont inférieures et parfois même absentes comparativement au méconium pur et à la moyenne générale

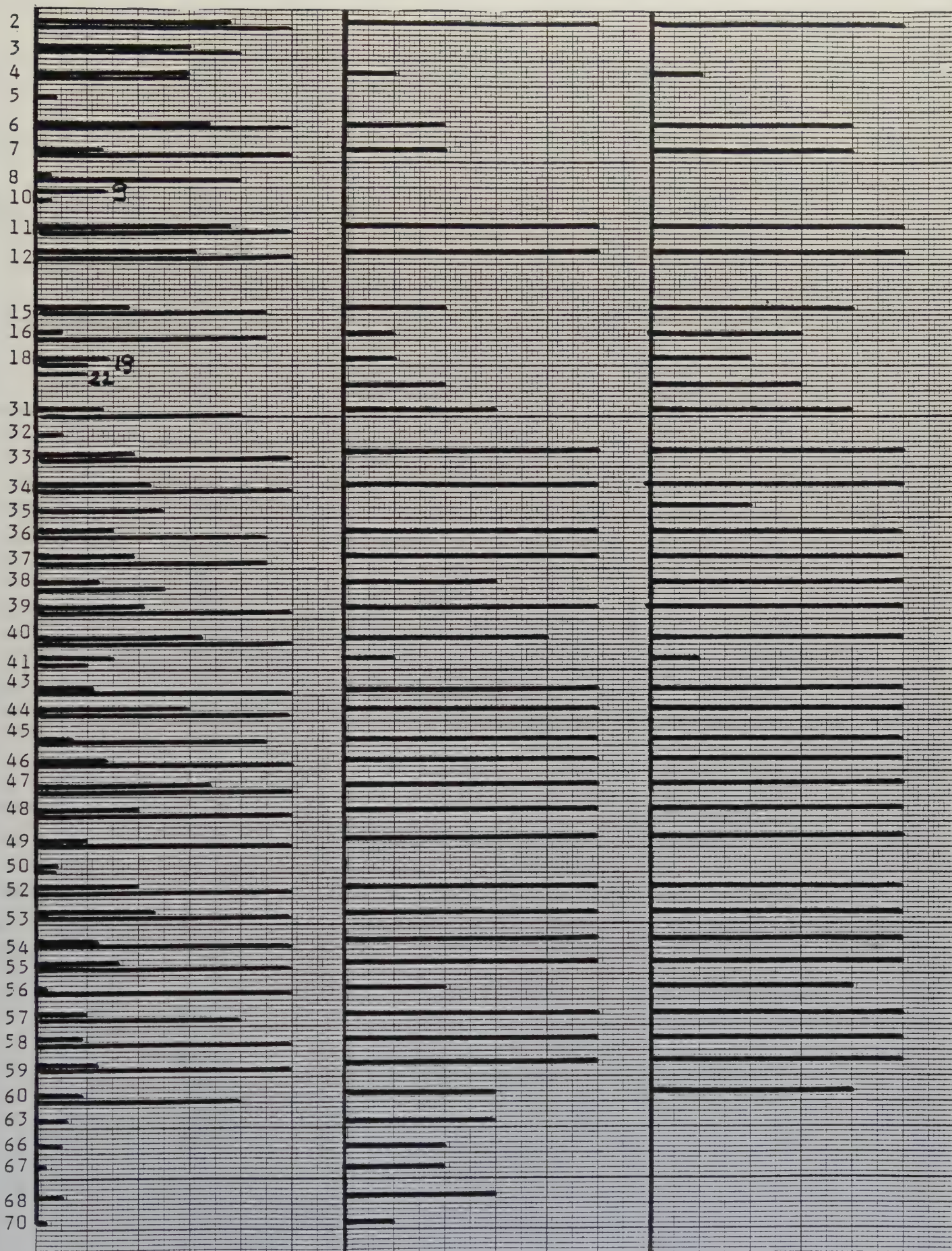
- estérase, lipase, ocytocynase ; ceci est logique puisque l'organisme est à terme, mais la diminution est plus importante que lors de liquides clairs.

- le contenu trypsique du méconium n'est pas retrouvé.

- il y a disparition de la L-séryl-L-tyrosine.

Dans un liquide il n'existe pas d'activité deshydrogénasique, tandis que dans l'autre elle est nettement supérieure à la normale.

En conclusion, il semble donc que les liquides méconiaux s'écartent de la moyenne dans deux directions opposées. On peut supposer que la présence de méconium amène une quantité importante d'enzymes et inversement neutralise certaines autres déjà présentes.



Le deuxième trait est celui du méconium pur.

C - TERMES DEPASSES - 50 -

Nous n'avons retenu qu'un seul terme dépassé, car le diagnostic en était certain.

Il s'agit d'une grossesse de 42 semaines. Le dosage d'oestriol était de 4 800 gammas la veille de la césarienne. L'enfant pesait 3 kg 120 et présentait tous les signes de post-maturité.

Le liquide prélevé au moment de l'hystérotomie avait un aspect légèrement citrin.

Ce qui apparait évident à l'étude du zymogramme, est la forte activité aminopeptidasique bien que le liquide ne soit pas méconial. Toutes les aminopeptidases en particulier la L-seryl-L-tyrosine (50) (absente dans les liquides méconiaux) sont augmentées. Une exception doit cependant être faite : il n'y a pas de D L methionine.

Par ailleurs, il existe une quantité très importante de β galactosidase (14) et de β glucuronidase (15), ainsi que d' α glucosidase (16).

Il est intéressant de constater qu'il n'existe pas d'activité ocytocynase (8). Ceci peut amener à deux hypothèses :

- soit il n'y a pas d'ocytocone donc pas d'ocytocynase.
- soit toute l'ocytocynase est utilisée pour détruire l'ocytocone et donc il n'en reste plus de quantité libre et dosable.

Etant donné que nous ne possédons qu'un cas de terme dépassé le profil très perturbé ne peut être pour l'instant retenu. Par contre on peut supposer qu'une forte activité aminopeptidasique n'a pas uniquement une origine méconiale. Restent à trouver quelles sont les autres possibilités.

	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
	7	
	8	
	10	
	11	
	12	
	14	
	15	
	16	
	18	
	22	
	21	
	22	
	23	
	24	
	25	
	26	
	27	
	28	
	29	
	40	
	41	
	43	
	44	
	45	
	46	
	47	
	48	
	49	
	50	
	52	
	53	
	54	
	55	
	56	
	57	
	58	
	59	
	60	
	63	
	66	
	67	
	68	
	70	

D - ETUDE DE PLUSIEURS PROFILS ENZYMATIQUES
SUR LE MEME LIQUIDE A DES AGES DIFFERENTS

- 5 - 6 - 7 -

Ce cas est intéressant car nous possédons quatre liquides amniotiques prélevés en cours de grossesse et deux biopsies ovariennes.

Il s'agit d'une Vlle pare avec dans ses antécédents une mort foetale in utéro à 40 semaines.

Lors de cette grossesse elle est hospitalisée pour un néoplasme du sein gauche avec métastase vertébrale.

Première amniocentèse

Liquide jaune, légèrement méconial (protéines totales 3g/l, urée 0,44 g/l, créatinine 9,5 mg/l, acide urique 94 mg/l). Le rapport L/S est voisin de 1,5 et il y a 2 % de cellules oranges. L'examen cytologique montre la présence de corps ovales, de taille variable entre 8 et 80 microns environ, anucléés, réfringents très nombreux. Il ne s'agit ni d'éléments cellulaires, ni d'organismes bactériens, ni de levures.

Le taux d'oestriol est de 3 955 gamma et le pregnandiol est de 32,6 mg (dans les urines).

Deuxième amniocentèse

Le liquide légèrement citrin n'est plus méconial (protéines totales 1 g/l, urée 0,53 g/l, créatinine 10 mg/l, acide urique 73 mg/l). Le rapport L/S est toujours voisin de 1,5 et le nombre de cellules oranges n'a pas varié. Les éléments ovoïdes ont considérablement diminué et on ne retient donc qu'un taux d'urée élevé.

Troisième amniocentèse

Le liquide a un aspect pratiquement normal (protéines totales 2 g/l, urée 0,51 g/l, créatinine 12 mg/l). Le rapport L/S est supérieur à 1,80 et le taux de cellules oranges est toujours de 2 %. La maturité foetale progresse mais l'urée est toujours élevée.

20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100

Quatrième amniocentèse

Elle a été pratiquée au cours de la césarienne mais nous n'avons pas d'examen comparatif du laboratoire.

Ovaire droit : aspect histologique normal.

Ovaire gauche : fortement suspect de métastase.

NB - Il est vraisemblable que les corpuscules trouvés au cours des différents examens étaient d'origine médicamenteuse. En effet, pour lutter contre ses douleurs vertébrales, la patiente a reçu de très fortes doses d'antalgiques.

ANALYSE DES DIFFERENTS PROFILS

Ce qui frappe d'emblée c'est la différence existant entre le premier liquide et les trois autres. En effet l'activité moyenne qui était d'abord élevée retombe ensuite.

- certaines activités diminuent :

* phosphatases alcaline et acide, phosphodiesterase (2, 3,

* β glucuronidase (15) et β glucosaminidase (18)

* toutes les aminopeptidases sauf l' α L aspartyl (38)

- d'autres activités disparaissent :

* α glucosidase (16)

* lactosidase (27)

* L-proline (56) et surtout la DL methionine (45) et la glycyl-L-prolyl aminopeptidases (48)

On peut envisager deux hypothèses :

La première est qu'il existait un certain degré de souffrance foetale (oestriol bas) du sans doute à la cachexie, l'épuisement maternel et à la thérapeutique. Après réanimation de la mère, les échanges foeto-maternels ont été améliorés ce qui a entraîné la disparition de cette souffrance.

La deuxième hypothèse est suggérée par le fait qu'entre les deux premières amniocentèses, la mère a reçu une cure de Betnesol. Ce dernier, aurait-il pu agir sur les métabolismes dans le sens de la diminution ?

Si certaines activités disparaissent, par contre certaines autres absentes à la 31e semaine apparaissent :

C'est le cas de la N- γ -L-glutamyl (41), de la L-lactate (66) à la 33e semaine et de la 6-phosphogluconate (68) au moment de la césarienne.

Comme on l'a vu dans l'étude analytique de chaque enzyme, on constate une évolution de certaines activités au cours de la gestation. Il s'agit de la lipase (5) et de l'estérase (3). Ces deux enzymes disparaissent autour de la 34e semaine, ce qui, si nous pouvons le confirmer ultérieurement, serait intéressant pour fixer un âge gestationnel.

On peut enfin noter que dans le quatrième liquide de nombreuses activités ont disparu en plus de celles précédemment citées, ce sont la valine aminopeptidase (7), la N- γ -L-glutamyl (41, elle redisparait), la L-isoleucine (54), la L-ornithine (55), la L-serine (57) et la L-threonine (58).

Pour ce qui concerne les ovaires nous n'avons pas trouvé de travaux antérieurs.

L'activité générale de base est faible dans les deux cas ; dans l'ovaire métastatique, les enzymes présentes sont plus nombreuses que dans l'ovaire sain (2 - 3 - 4 - 5 - 15 - 23 - 52). En outre, il existe une très forte activité lactico-deshydrogénase (66) ce qui, comme on le verra dans l'étude des cellules néoplasiques, est assez caractéristique.

E- LIQUIDES DE FOETUS MORTS IN UTERO

Les liquides que nous étudions maintenant sont ceux de grossesses arrêtées avec mort foetale plus ou moins récente.

Premier liquide - 1 -

Il s'agit de la grossesse la plus jeune que nous ayons étudiée (13 semaines révolues). La ponction a été pratiquée directement dans l'oeuf au moment de son expulsion. L'embryon était en voie de lyse.

Ce liquide est intéressant à plusieurs titres :

* il nous permet de savoir quelles activités enzymatiques sont présentes à la 13^e semaine. Toutes le sont sauf la glucosaminidase (18), la DL méthionine (45), la glycyl-glycine-L-arginine (60), la L-sérine-L-tyrosine (50). Il en est de même pour les deshydrogénases sauf la L-lactate (66). Par contre nous avons trouvé certaines glycosidases absentes normalement dans notre série. Ce sont l' α D-xylosidase (23), la β D et la β L-fucosidase (24-25) ainsi que la lactosidase (27). La présence de ces activités laisse supposer une contamination bactérienne.

* l'intensité élevée des taux semble prouver que ces enzymes proviennent de la lyse embryonnaire.

Second et troisième liquides - 18 - 19

Nous avons regroupé ces deux liquides car il s'agissait d'une grossesse gémellaire de 33 semaines. Une poche contenait un enfant macéré et la seconde un enfant mort à la naissance. Nous ne possédons que l'analyse d'une seule poche (bilirubine 3,4 mg, L/S supérieur à 10, cellules oranges supérieures à 70 %).

a) Mort né

L'activité générale est très importante et concerne pratiquement toutes les enzymes, en particulier l'ocytocynase (8).

b) Enfant macéré

Si quelques aminopeptidases demeurent élevées (6 - 40 - 44 - 47) le profil enzymatique montre des activités dans l'ensemble faibles ou absentes (16 - 37 - 38 - 48 - 54 - 56 - 57 - 58 - 59 - 60 - 67 - 65) par

A full-page view of a sheet of white graph paper. The grid consists of light gray horizontal and vertical lines forming small squares. A thicker black border runs along the top edge of the page. There are some faint, illegible markings near the top left corner, possibly from a previous page or scanning artifacts.

rapport au liquide précédent.

Quatrième liquide - 4 -

On est là encore en présence d'une grossesse gémellaire mais cette fois monochoriale biamniotique à 27 semaines. L'examen du liquide a donné les résultats suivants : protéines 4 g, créatinine 10,4 mg, bilirubine 0,9 mg et α foeto-protéine 24 000.

L'activité enzymatique est une des plus faible que nous ayons rencontrée. De très nombreuses enzymes sont absentes (5 - 8 - 10 - 31 - 33 - 38 - 43 - 49 - 50 - 52 - 54 - 56 - 57 - 58 - 59 - 60 - 63 - 66 - 67 - 70)

De l'étude de ces quatre liquides il se dégage les faits suivants :

- * en cas de souffrance foetale aigue l'activité est maximale.
- * en cas de mort foetale in utéro l'activité enzymatique reste élevée puis diminue au fur et à mesure que l'on s'éloigne du décès.
- * les enzymes qui disparaissent le plus lentement sont les aminopeptidases.
- * il peut y avoir dans ces cas là accouchement avec un taux d'ocytocynase élevé.

F - LIQUIDES AMNIOTIQUES ET MALFORMATIONS CRANIENNES

Nous allons étudier trois liquides regroupés dans le même chapitre ; en réalité ceci est arbitraire car les malformations que présentaient les enfants ne sont pas identiques.

Premier liquide - 34 -

Il a été recueilli lors d'une césarienne. L'enfant présentait une cébocéphalie (un oeil, une narine, un hémisphère en chapeau de gendarme).

L'étude classique du liquide a montré un taux de protéines à 3 g/l, une créatinine à 11,2 mg/l et une α foeto-protéine à 300 microgrammes/l. Le glucose était bas 0,6 g.

Notre zymogramme a les caractéristiques suivantes :

* la phosphatase alcaline (2), l'estérase (3), l'estérase lipase (4), la leucine aminopeptidase (6) sont très élevées.

* de très nombreuses activités sont absentes. Ceci touche essentiellement les aminopeptidases (8 - 32 - 33 - 34 - 35 - 36 - 37 - 38 - 39 - 43 - 45 - 46 - 48 - 49 - 50 - 54 - 56 - 57 - 58 - 59 - 60).

Il est évidemment impossible de rattacher ces modifications à la malformation.

Deuxième liquide - 17 -

Il provient d'une amniocentèse pratiquée à 36 semaines environ, l'enfant était un macrocéphale.

Les protéines étaient à 3,5 g/l, la créatinine à 10,2 mg/l, le glucose à 1,20 g/l et l' α foeto-protéine à 800 microgrammes/l. De nombreuses activités enzymatiques sont là aussi absentes mais en moins grand nombre que précédemment :

* il manque (8 - 10 - 22 - 32 - 35 - 43 - 45 - 46 - 48 - 49 - 50 - 54 - 56 - 57 - 58 - 59 - 60)

Inversement quelques enzymes ont un taux supérieur à la normale estérase (3), leucine aminopeptidase (6), DL alanyl (40), glycyl-L-phenylalanine (47).

	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
	7				
	8				
	9				
	10				
	11				
	12				
	13				
	14				
	15				
	16				
	17				
	18				
	19				
	20				
	21				
	22				
	23				
	24				
	25				
	26				
	27				
	28				
	29				
	30				
	31				
	32				
	33				
	34				
	35				
	36				
	37				
	38				
	39				
	40				
	41				
	42				
	43				
	44				
	45				
	46				
	47				
	48				
	49				
	50				
	51				
	52				
	53				
	54				
	55				
	56				
	57				
	58				
	59				
	60				
	61				
	62				
	63				
	64				
	65				
	66				
	67				
	68				
	69				
	70				

Troisième liquide - 39 -

Il s'agit d'un anencéphale. Nous ne possédons pas d'éléments quant à l'analyse du liquide.

Le zymogramme a un aspect proche de notre liquide moyen. Ce qui diffère, est l'intense activité deshydrogénasique (en particulier la L-lactate (66)).

En conclusion, deux liquides sont assez proches l'un de l'autre et caractérisés par le faible nombre d'activités trouvées et par quelques-enzymes dont le taux est important. Il est intéressant de noter que contrairement à la normale le taux d'estérase est élevé pour des liquides de cet âge.

Le troisième se singularise par son activité deshydrogénasique.

G - HYDRAMNIOS

Premier liquide - 3 -

Grossesse de 27 semaines. La mère présente une insuffisance rénale chronique nécessitant une dialyse quotidienne. L'analyse montre des protéines à 4 g/l, une urée à 1, 20 g/l et une foeto-protéine à 11 500. Il est noté par ailleurs la présence d'éléments méconiaux.

Le liquide se caractérise par une importante activité enzymatique concernant surtout la phosphatase alcaline et la majorité des aminopeptidases.

Deuxième liquide - 8 -

Grossesse de 31 semaines. Protéines 3,2 g/l, L/S à 1 et foeto-protéine à 1 800.

L'augmentation enzymatique que nous avons constatée précédemment est encore plus accentuée, bien que le liquide ne soit pas méconial. Ceci prouve encore une fois que des taux enzymatiques élevés ne sont pas forcément dus à une souillure méconiale.

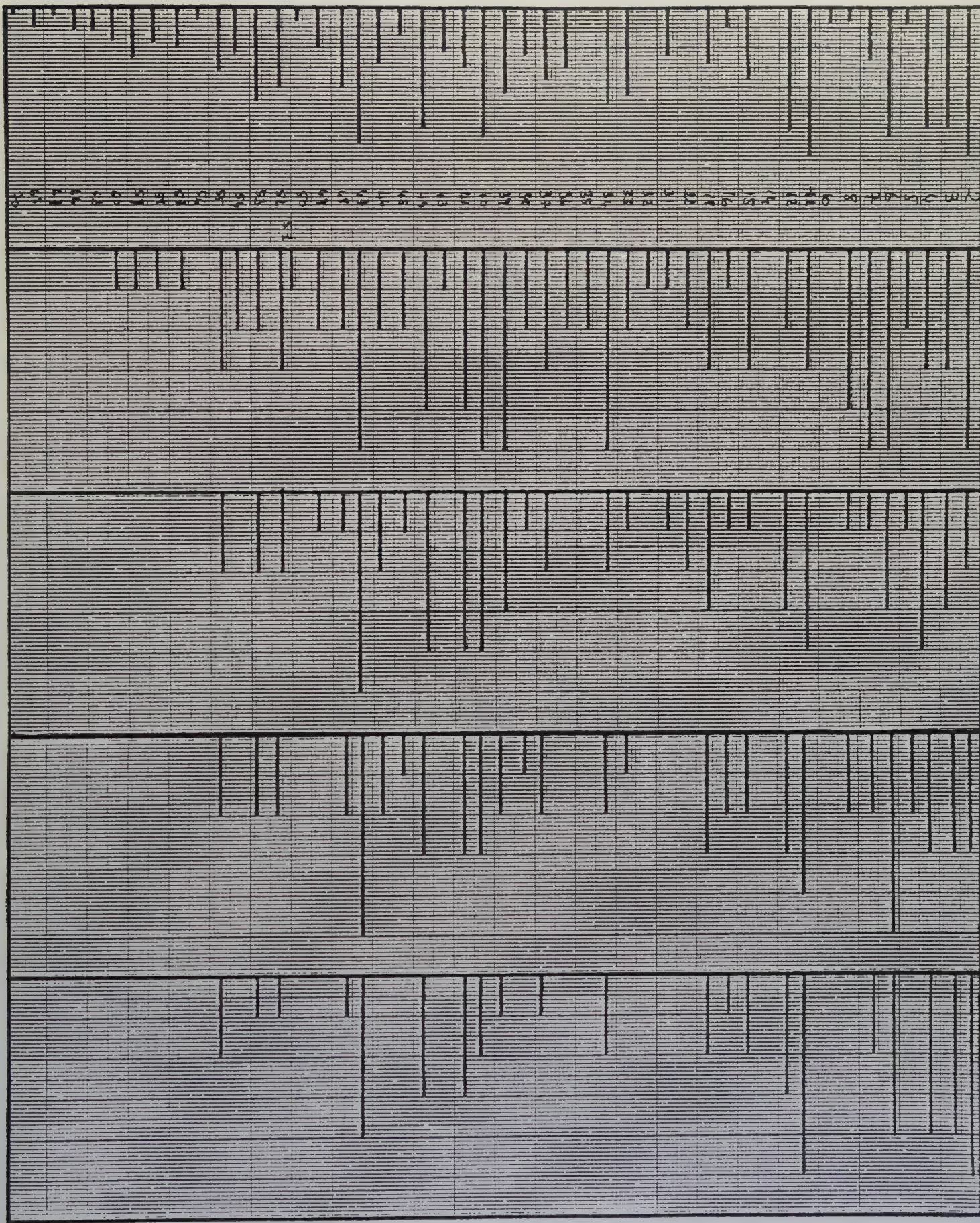
Troisième liquide - 2 -

Il s'agit d'une grossesse de 27 semaines avec des protéines à 5 g/l, une α F.P. à 20 000 et un glucose à 0,10 g/l. Ce liquide est très différent des autres. Mis à part un taux de 6 - 40 - 44 - 47 élevé, l'activité enzymatique est plus faible que la moyenne.

Quatrième liquide - 26 -

Grossesse de 38 semaines. Le liquide prélevé au moment de la césarienne (enfant de 3 kg 640) montrait un rapport L/S = 10. Le zymogramme montre une activité plus faible que la normale bien que l'on soit à terme.

En conclusion, nous nous trouvons devant deux groupes de profils différents et on ne peut en connaître la raison. Il est cependant logique de supposer que l'étiologie différente des hydramnios et le retentissement foetal variable en soient la cause.



H - LIQUIDE AMNIOTIQUE et ISO-IMMUNISATION

Deux premiers liquides - 13 - 25 -

Ils concernent la même grossesse à 33 et à 36 semaines. Dans le premier liquide le rapport L/S est à 2 tandis que dans le second il est à 4,5. Ces deux liquides ont un aspect très similaire par le faible nombre d'activités trouvées surtout au niveau des aminopeptidases.

Troisième et quatrième liquides - 21 - 27 -

Ils ont été prélevés à la 34e et à la 37e semaine chez une femme dont le taux d'anticorps est passé de 1/32 à 1/128. Dans le premier liquide la bilirubine est à 0,07 mg/l tandis que dans le second elle est à 0,4 mg/l. Ce qui différencie ces deux liquides est la présence dans le premier de trypsine (9) et dans le second de N-benzoyl-L-leucyl (42). Il n'y a pas de grande différence par rapport à notre moyenne.

Cinquième liquide - 12 -

Il s'agit d'une grossesse de 33 semaines. Comme dans le précédent on note la présence de (42) et l'importante quantité de phosphatase acide (11) et de β glucosaminidase (18).

En conclusion, comme pour le chapitre précédent il est difficile de tirer des conclusions étant donné la variabilité des profils observés.

Handwritten text in a cursive script, likely a historical record or ledger entry, spanning the width of the page.

6

48

48

C H A P I T R E VI

EQUIPEMENT ENZYMATIQUE DU MECONIUM

Le méconium est vraisemblablement une source importante enzymatique. Pour savoir quelles activités étaient présentes et à quel taux, nous avons analysé du méconium pur prélevé durant les premiers jours de vie.

Ce méconium a été ensuite congelé et dilué à raison de 1 ml pour 30 mg. Les résultats sont en nanomoles/ml/heure.

Cette dilution n'est peut être pas suffisante car nous avons obtenu une saturation de certaines réactions colorées.

Nous allons utiliser le même plan que pour le liquide amniotique.

I - DESHYDROGENASES

Nous n'en avons jamais observé, ce qui confirme les travaux de GEYER (1970) qui, par des techniques plus précises, n'avait mis en évidence que des traces de MDH, LDH, G6PDH.

II - HYDROLASES

- estérase (3) : taux compris entre 20 et ≥ 40
- estérase lipase (4) : taux compris entre 5 et ≥ 40
- lipase (5) : taux < 0

Certains auteurs en trouvent des traces (SCHWARTZ -1953-), d'autres n'en décèlent pas (HYMANSON et KAHN -1919-)

- phosphatase alcaline (2) : taux toujours ≥ 40

Tous les travaux mentionnent la source importante constituée par le méconium. Celui du gros intestin foetal a un taux supérieur à celui de l'intestin grêle (DALHQUIST, LINDBERG -1966-). Selon EGGERMONT (1966)

il y a augmentation du taux méconial pendant la grossesse.

- phosphatase acide (11) : taux ≥ 40 .

Selon ELIAKIS et coll. (1971) le taux de phosphatase acide est très élevé (16,2 - 20,2 millimoles unités pour une solution de 100 ug/ml).

- phosphoamidase (12) : taux ≥ 40

III - HYDROLASES (glycosidases)

Nous avons recherché uniquement les activités enzymatiques suivantes :

- α galactosidase (13) : taux < 0
- β galactosidase (14) : traces dans deux méconiums sur six
- β glucuronidase (15) : taux compris entre 20 et ≥ 40
- α glucosidase (16) : taux compris entre 20 et ≥ 40
- β glucosidase (17) : taux < 0
- β glucosaminidase (18) : taux compris entre 5 et ≥ 40
- α mannosidase (19) : taux compris entre 0 et 10
- α fucosidase (20) : un taux sur six égal à 5

IV - HYDROLASES (aminopeptidases)

Les valeurs que nous citerons avec les nôtres ont été établies par GRUNDIG et RUMLER (1967).

- leucine aminopeptidase (6) : taux compris entre 30 et ≥ 40
G et R. $33,13 \pm 6,93$
- valine aminopeptidase (7) : taux compris entre 30 et ≥ 40
- cystine aminopeptidase (ocytocynase) (8) : taux compris entre 20 et 30
- L-tyrosyl (31) : taux compris entre 20 et ≥ 40
- L-pyrrolidonyl (32) : un liquide positif à 5 nanomoles
- L-phenylalanyl (33) : taux ≥ 40
- L-lysyl (34) : taux ≥ 40
- L-hydroxyprolyl (35) : taux compris entre 5 et 30

	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
	7		
	8		
	9		
	10		
	11		
	12		
	13		
	14		
	15		
	16		
	17		
	18		
	19		
	20		
	31		
	32		
	33		
	34		
	35		
	36		
	37		
	38		
	39		
	40		
	41		
	42		
	43		
	44		
	45		
	46		
	47		
	48		
	49		
	50		
	51		
	52		
	53		
	54		
	55		
	56		
	57		
	58		63
	59		66
	60		67
			68

- L-histidyl (36) : taux 40
- L-glycyl (37) : taux compris entre 20 et 40
- α -L-aspartyl (38) : taux compris entre 5 et 40
- L-arginyl (39) : taux 40
- DL alanyl (40) : taux 40
- N- γ -L-glutamyl (41) : deux liquides positifs seulement 1 à 5
et l'autre 40
- N-benzoyl-L-leucyl (42) : taux 0
G et R. $49,45 \pm 10,35$ U
- S-benzoyl-L-leucyl (43) : taux 40
- N-glutaryl-L-phenylalanine (44) : taux 40
- DL méthionine (45) : taux compris entre 30 et 40
- glycyl glycine-L-naphtylamidase (46) : taux 40
G et R. $37,22 \pm 7,37$ U
- glycyl-L-phenylalanine (47) : taux 40
G et R. $38,18 \pm 7,09$ U
- glycyl-L-prolyl (48) : taux 40
- L-leucyl-glycine (49) : taux 40
- L-séryl-L-tyrosine (50) : un taux = 0 à 5 nanomoles
- N-CBZ-L-arginine-4-méthoxy- β -naphtylamidase (51) : un taux = 0
à 10 nanomoles
- L-glutamine (52) : taux compris entre 30 et 40
- α -L-glutamyl (53) : taux compris entre 30 et 40
- L-isoleucine (54) : taux 40
- L-orinithine (55) : taux 40
- L-proline (56) : taux compris entre 20 et 40
- L-sérine (57) : taux compris entre 30 et 40
- L-thréonine (58) : taux compris entre 30 et 40
- L-tryptophane (59) : taux 40
- N-CBZ-glycylglycine-L-arginine (60) : taux compris entre 0 et
40
- trypsine (9) : deux méconiums sur six ont un taux de 20 nano-
moles

- chymotrypsine (10) : taux 0
- trypsine et chymotrypsine : proviendraient de la bile foetale

Un certain nombre d'activités sont absentes dans le méconium alors qu'elles sont présentes dans le liquide amniotique. Ce sont :

- lipase (5)
- chymotrypsine (10)
- galactosidase (14)
- deshydrogénase D glucose-6-phosphate (63)
 - L lactate (66)
 - L malate (67)
 - 6-phosphogluconate (68)
 - xanthine (70)

Inversement, d'autres activités absentes dans le liquide amniotique sont présentes dans le méconium.

- trypsine (9)
- α galactosidase (13)
- α mannosidase (19)
- α fucosidase (20)
- L pyrrolidonyl aminopeptidase (32)
- L hydroxyprolyl (35)

Cette analyse du méconium est certainement incomplète car elle ne met pas en évidence l'évolution des activités enzymatiques : il est possible en effet que la première émission n'ait pas le même profil que la dernière.

Pour beaucoup d'enzymes, nous avons eu une saturation de nos réactions colorées ; une plus grande précision pourrait sans doute être obtenue en pratiquant des dilutions successives.

En conclusion, on peut dresser la liste des activités enzymatiques du méconium et constater sa richesse tant sur le nombre d'enzymes présentes que sur leur quantité importante.

C H A P I T R E V I I

RECHERCHE ENZYMATIQUE DANS LE DOMAINE GYNECOLOGIQUE

Nous nous sommes intéressés dans ce chapitre à différents organes :

- Seins
- Utérus
 - myomètre
 - endomètre
- Col utérin
- Ovaires

Comme pour le liquide amniotique nous nous sommes fixés un double objectif

1° - connaître quelles activités enzymatiques étaient présentes dans ces tissus, qu'ils soient normaux ou pathologiques.

2° - établir les profils enzymatiques des cas étudiés et essayer de trouver s'il existait des modifications en fonction d'anomalies histologiques.

Contrairement au liquide amniotique, dans cette étude, nous pourrons comparer nos résultats avec les examens histologiques effectués par Mr le Professeur VAUZELLE.

Au point de vue technique nous avons pratiqué des biopsies de pièces opératoires que nous avons conservées par congélation. Au moment de l'analyse, nous les avons simplement placées dans de l'eau distillée glacée (30 mg pour 1 ml d'eau). Les cellules ont éclaté libérant leurs enzymes. Le reste de la manipulation est identique à celle des liquides amniotiques.

Première partie -

SEINS

Nous allons tout d'abord étudier chaque activité enzymatique puis analyser quelques profils typiques.

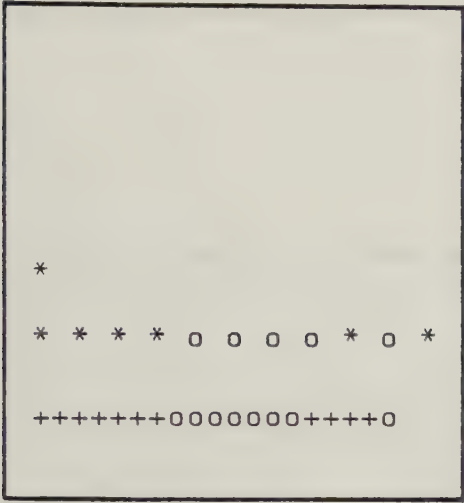
- Analyse de chaque activité

Etant donné que nous avons des cas très variés nous allons les regrouper sous trois symboles :

- * mastoses fibro-kystiques
- + adénocarcinome de différents degrés de malignité
- o fibro-adénome
cystotéatonécrose
tumeur phyllode du sein
tissu mammaire normal

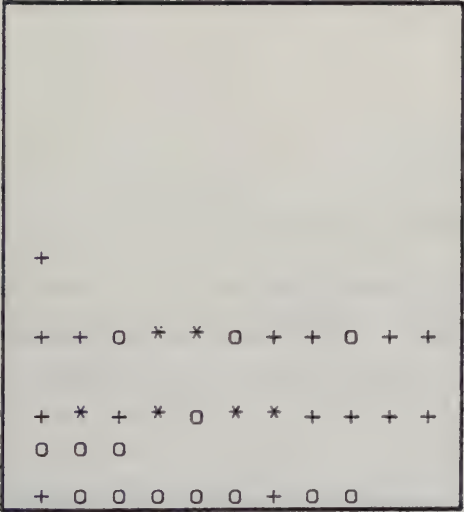
Nous allons d'abord éliminer les activités enzymatiques que nous n'avons jamais rencontrées dans le sein.

- trypsine (9)
- α glucosidase (16) - galactosidase (13)
- β glucosidase (17)
- α mannosidase (19)
- α fucosidase (20)
- β D-xylosidase (21)
- N acétyl- α -D-glucosaminidase (26)
- cellobiosidase (30)
- L-pyrrolidonyl-aminopeptidase (32)
- N-benzoyl-L-leucyl " (42)
- DL-méthionine " (45)
- N-CBZ-L-arginine-4-méthoxy- β -naphtylamidase (51)
- N-CBZ-glycylglycine-L-arginine- β -naphtylamidase (60)
- DL-isocitrate (65)
- succinate (69)
- xanthine (70)



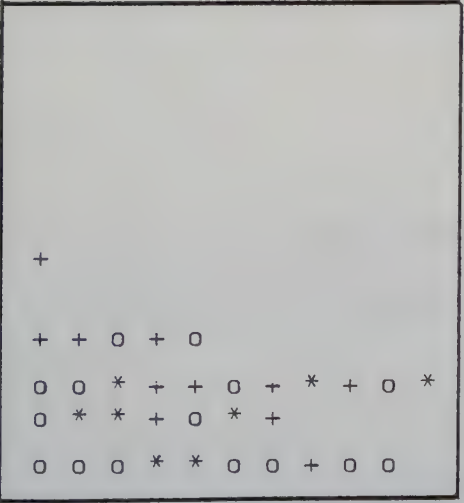
PHOSPHATASE ALCALINE (2)

Les taux trouvés dans les carcinomes sont faibles et toujours plus bas que dans les mastoses



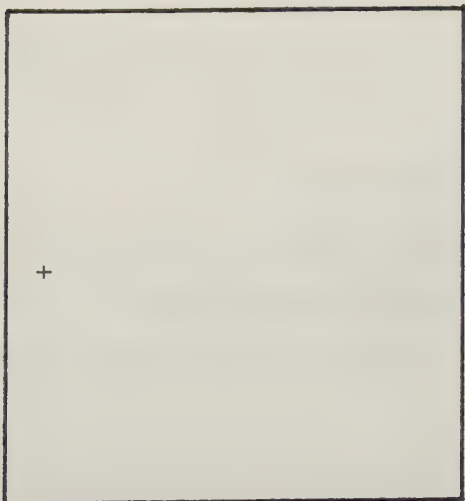
ESTERASE (3)

Il n'y a pas de différence significative dans les résultats



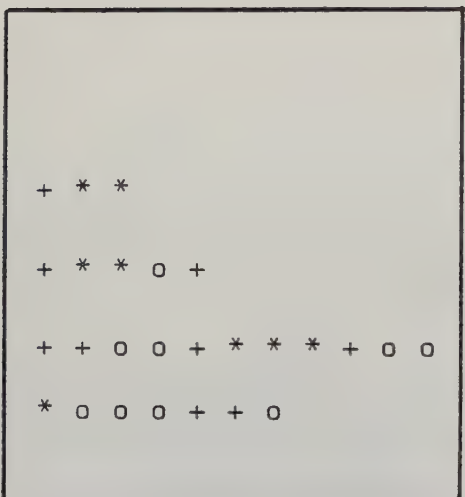
ESTERASE LIPASE (4)

Même remarque que pour l'estérase.



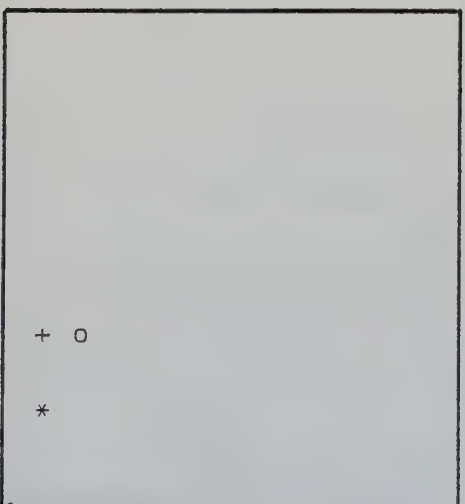
LIPASE (5)

Un seul carcinome infiltrant a une activité



LEUCINE-AMINOPEPTIDASE (6)

Il semble que globalement les taux soient plus élevés dans les mastoses. L'activité maximum est trouvée dans la tumeur phyllode.



VALINE-AMINOPEPTIDASE (7)

Trois taux seulement sont positifs.

CYSTINE-AMINOPEPTIDASE (8)

Lorsque l'activité est présente, les taux sont faibles. Presque tous les cancers sont présents. Cette activité semble donc assez spécifique de la malignité.

CHYMOTRYPSINE (10)

Elle n'est pas toujours présente et il n'y a pas de différence significative quant à l'origine.

PHOSPHATASE ACIDE (11)

Les taux sont importants principalement dans les tumeurs malignes.

+	*	+	o	+
+	*	+	+	+
+	*	*	*	
*	o	o	*	*
*	*	*	+	o
o	o	o	o	o
o				
o	o	+	o	+

PHOSPHOAMIDASE (12)

La répartition est assez superposable à celle de la phosphatase acide ; les adénocarcinomes ont dans la majorité des cas une activité intense.

+	o								
+	+	+							
+	o	*	*	o	+	+	*		
*	o	*	*	*	*	*	+	*	o
*									*

β GALACTOSIDASE (14)

Elle semble assez caractéristique des tumeurs malignes. On la rencontre dans trois cas de mastoses et jamais dans le sein normal ou dans une autre pathologie sauf la tumeur phyllode.

+	+	+	o						
*	*	*	+	*					
+	+	*	o	*					
+	*	*	+	o	o	*			
o	o	o	o	o	o	+			
+									

β GLUCURONIDASE (15)

Toutes les mastoses et la majorité des adénocarcinomes ont une activité relativement importante.

+	*	+	+	+	+
+	o	+			
+	*	*	o	o	o
o	*	+	o		
o	+	+	o		
				*	*
				*	*
				*	*
				o	o
				*	

β GLUCOSAMINIDASE (18)

L'activité générale est moyennement élevée.
Les adénocarcinomes ont, dans la majorité des cas, des taux supérieurs aux autres pathologies.

+					
+					
o	*	o	*	+	+
				o	

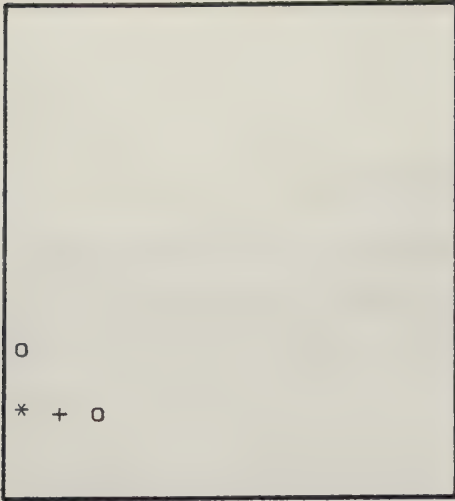
PHOSPHODIESTERASE (22)

Toutes les biopsies n'ont pas une activité dosable ; là encore les taux maximum sont rencontrés dans les adénocarcinomes.

*	o
+	o

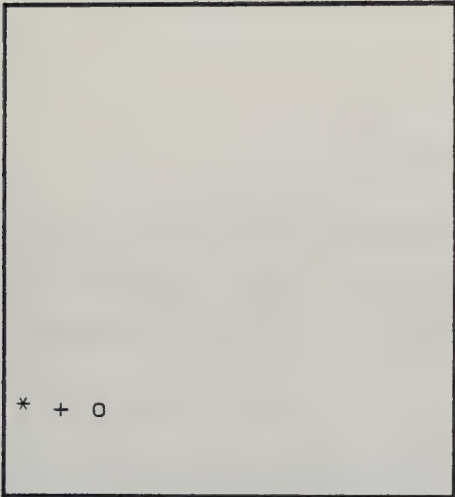
α D-XYLOSIDASE (23)

Quatre résultats positifs seulement. Un des taux maximum est rencontré dans un fibro-adénome.



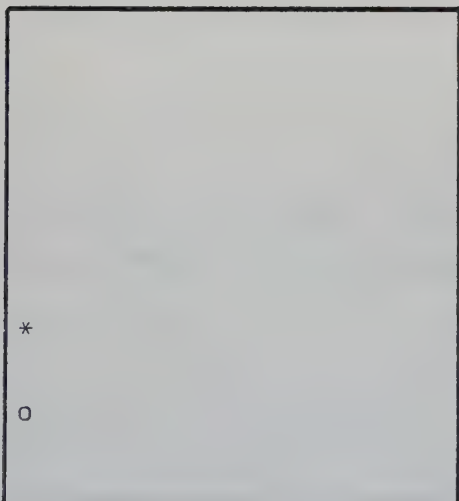
β D-FUCOSIDASE (24)

Le taux maximum est là encore rencontré dans un fibro-adénome.



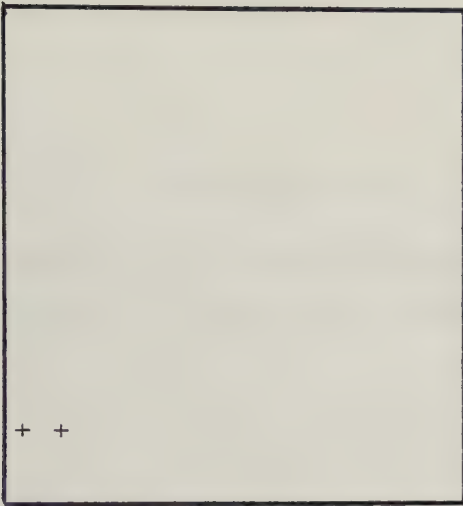
β L-FUCOSIDASE (25)

Il ne se dégage aucune interprétation possible si ce n'est que cette activité est rarement rencontrée.



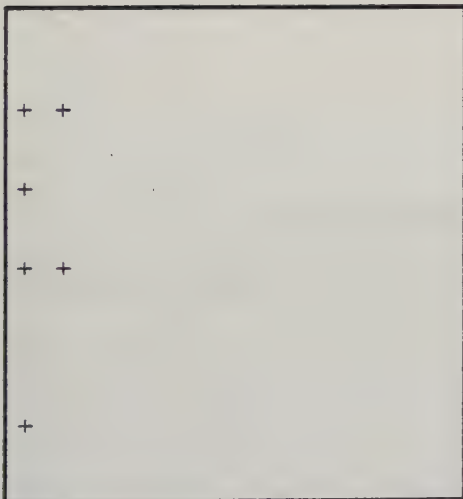
LACTOSIDASE (27)

Même remarque que précédemment.



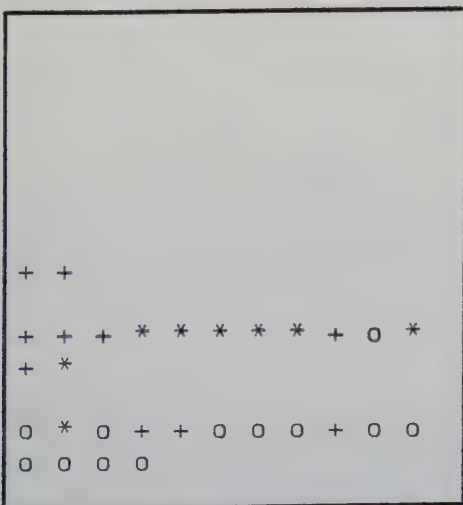
ARYLSULFATASE (28)

Deux taux positifs seulement. (adénocarcinome).



ARABINOSIDASE (29)

Cette activité semble très spécifique des tumeurs malignes car elle n'est jamais rencontrée dans le sein normal et dans une pathologie bénigne.



L-TYROSYL-AMINOPEPTIDASE (31)

Les taux entre mastose et adénocarcinome sont sensiblement les mêmes.

* + + + 0 0

+

* * + * * 0 *

* 0 0 0 0 0 0 0

$+$ $+$ 0 $*$ 0 0 $+$ 0

L-PHENYLALANYL-AMINOPEPTIDASE (33)

Les cas d'adénocarcinomes ont d'une manière générale des taux plus élevés que les mastoses.

+ + + + + 0 *

+

+ * * * 0 *

0 * 0 * 0 * 0 * 0 0

0 0 0 0 + + 0

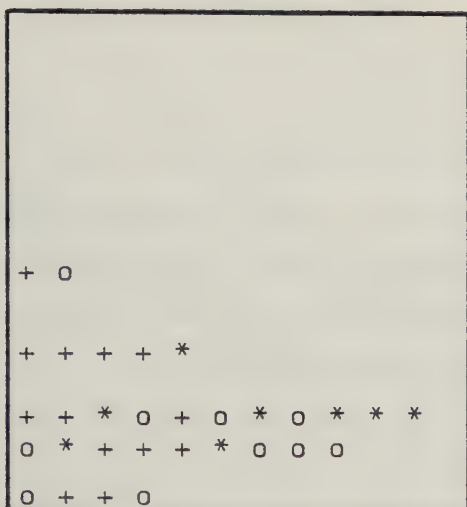
L-LYSYL-AMINOPEPTIDASE (34)

Aspect identique que celui précédemment décrit.

+

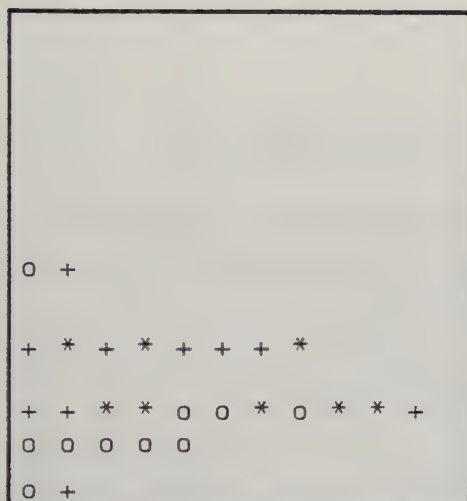
L-HYDROXYPROLYL-AMINOPEPTIDASE (35)

Un seul cas d'adénocarcinome à un taux positif.



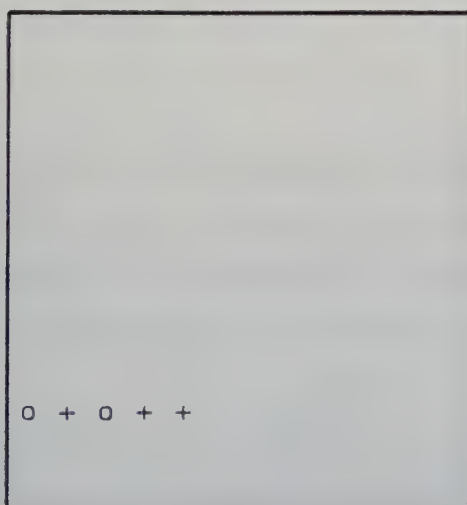
L-HISTIDYL-AMINOPEPTIDASE (36)

Les taux maximum sont là encore notés dans les adénocarcinomes et dans la tumeur phyllode.



L-GLYCYL-AMINOPEPTIDASE (37)

Le diagramme est assez superposable au précédent avec cependant une activité un peu plus importante dans les mastoses.



L-ASPARTYL-AMINOPEPTIDASE (38)

Cinq taux positifs seulement :

- 3 adénocarcinomes
- tumeur phyllode
- 1 fibro-adénome

```

* + 0 + +
* * * * * 0 + +
+ + 0 0
* + 0 0 0 0 0 0 + 0
0 + +

```

L-ARGINYL-AMINOPEPTIDASE (39)

Toutes les mastoses, sauf un cas, ont des taux élevés, contrairement aux adénocarcinomes dont la distribution des activités est moins homogène.

```

+ 0 + + *
* * * * * 0 * +
+ 0 0 0 +
+ * 0 + 0 0 0 0 0 +
0 + + 0

```

DL-ALANYL-AMINOPEPTIDASE (40)

Nous arrivons aux mêmes conclusions que pour l'activité précédente.

```

*
+ + 0 0 0 + 0 + 0

```

N- -L-GLUTAMYL-AMINOPEPTIDASE (41)

Les taux sont inconstamment positifs et il n'y a pas de différence significative un seul cas de mastose a une activité dosable.

+

$$+ + * 0 + + *$$

$+$ $*$ $*$ $+$ $+$ 0 0 0

$$\begin{array}{cccccccccc} * & 0 & 0 & 0 & 0 & * & * & + & * & + & 0 \\ 0 & 0 & 0 & & & & & & & & \end{array}$$

S-BENZOYL-L-CYSTEINE-AMINOPEPTIDASE (43)

Là encore les cancers ont une activité moyenne plus élevée. Les mastoses ont des taux très variables.

+ *

+

+ * 0 0 + + *

$$\begin{array}{cccccccccc} * & 0 & + & 0 & * & * & * & + & + & 0 & 0 \\ 0 & + & 0 & 0 & + & & & & & & \end{array}$$

0 + +

N-GLUTARYL-L-PHENYLALANINE (44)

La répartition des résultats montre que quelle que soit la pathologie, il n'y a pas de différence significative.

+

+ +

+

 $+$ $*$ $+$
$$+ \quad 0 \quad * \quad * \quad * \quad + \quad * \quad 0 \quad *$$

GLYCYL-GLYCINE-AMINOPEPTIDASE (46)

Cette activité semble assez spécifique
des adénocarcinomes. Les mastoses ont des
taux plus faibles.

+ 0 + +

+ * 0 * * * 0

$$0 \ 0 \ 0 \ 0 \ + \ + \ 0 \ 0 \ * \ * \ +$$

* + + + 0 0 + 0

GLYCYL-L-PHENYLALANINE-AMINOPEPTIDASE (4

Aucune conclusion ne peut être tirée du fait de la dispersion des taux.

+

*

+ * + 0 + 0 * + + +

GLYCYL-L-PROLYL-AMINOPEPTIDASE (48)

Les taux sont inconstants et principalement positifs dans les adénocarcinomes.

0

$$+ \quad * \quad + \quad + \quad *$$
$$+ \quad 0 \quad * \quad + \quad 0 \quad * \quad + \quad 0 \quad +$$

L-LEUCYL-GLYCINE-AMINOPEPTIDASE (49)

Là encore les activités ne sont pas rencontrées dans tous les cas. La proportion de taux positifs est cependant plus grande dans les cancers

○
 +
 + * * * * + ○ * + + +
 *

L-ISOLEUCINE-AMINOPEPTIDASE (54)

Aucune indication précise ne se dégage de l'étude de cette aminopeptidase.

○ +
 + +
 + + +
 * ○ ○ * ○ * * * * +
 ○ ○ *

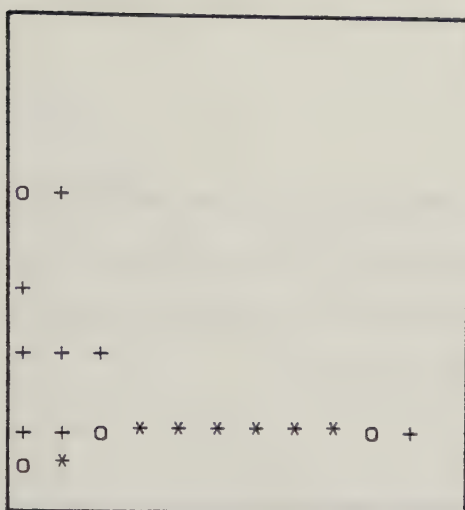
L-ORNITHINE-AMINOPEPTIDASE (55)

Cette activité semble assez spécifique des adénocarcinomes lorsqu'elle atteint un niveau moyen.

○
 + +
 + +
 + + ○ * * * ○ + ○ *

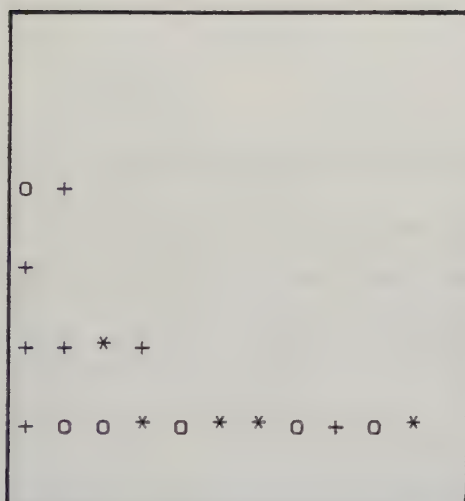
L-PROLINE-AMINOPEPTIDASE (56)

La seule indication est que, comme dans la 55, la tumeur phyllode a une très forte activité.



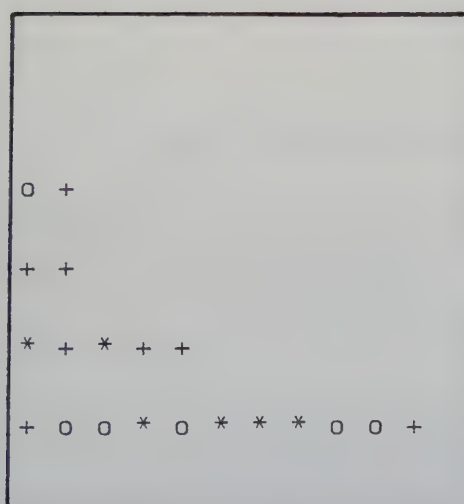
L-SERINE-AMINOPEPTIDASE (57)

Les adénocarcinomes ont globalement une activité plus intense que les mastoses.



L-THREONINE-AMINOPEPTIDASE (58)

Le diagramme a le même aspect que le 57.



L-TRYPTOPHANE-AMINOPEPTIDASE (59)

Mêmes conclusions que 57 et 58.

o	o								
+	+	+	*						
+	*	+	+						
+	*	*	+						
*	*	o	*	*	+				

D-GLUCOSE-6-PHOSPHATE-DESHYDROGENASE (63)

Les adénocarcinomes et certains cas de mastoses, ainsi que la tumeur phyllode ont des activités élevées.

+	o	*	+	o	*	+			

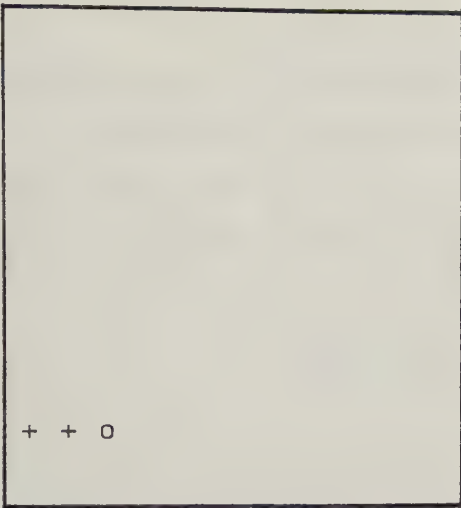
DL-GLYCEROPHOSPHATE-DESHYDROGENASE (64)

L'inconstance des taux positifs et la non dispersion de ceux-ci font qu'il ne se dégage aucune conclusion.

o									
+	+	+	+	o					
+	*	*	o	*	+				
o	o	*	o	*	*	*	+	+	o
*	+	+							
o	o	o	o						

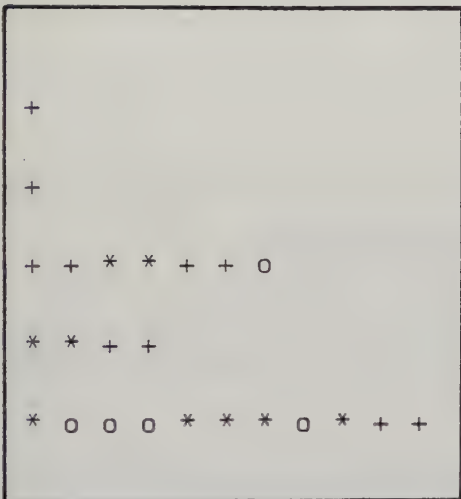
L-LACTATE-DESHYDROGENASE (66)

Les taux sont plus souvent élevés en cas de cancer et de tumeur phyllode qu'en cas de pathologie bénigne.



L-MALATE-DESHYDROGENASE (67)

Deux adénocarcinomes et la tumeur phyllode ont des taux faiblement positifs.



6-PHOSPHOGLUCONATE-DESHYDROGENASE (68)

Les mastoses ont dans l'ensemble une activité plus faible que les adénocarcinomes.

Nous voyons donc que l'équipement enzymatique du sein pathologique est très important puisque seulement 16 activités sont absentes.

D'une manière générale les adénocarcinomes ont des taux enzymatiques supérieurs aux autres cas. Ceci est plus marqué dans les activités suivantes :

- phosphatase acide (11)
- phosphoamidase (12)
- β galactosidase (14)
- β glucosaminidase (18)
- L-phenylalanine-aminopeptidase (33)
- L-lysyl-aminopeptidase (34)
- glycyglycine-aminopeptidase (46)
- L-serine-aminopeptidase (57) et L-ornithine-aminopeptidase (59)
- L-thréonine-aminopeptidase (58)
- D-glucose-6-phosphate-deshydrogénase (63)
- L-lactate-deshydrogénase (66)
- et surtout l'arabinosidase (29) puisque les seuls taux positifs que nous avons obtenus concernaient des adénocarcinomes.

Les mastoses ont une activité elle aussi importante, mais beaucoup moins marquée. Deux activités sont relativement spécifiques :

- leucine-aminopeptidase (6)
- et surtout phosphatase alcaline (2)

Enfin le sein normal et les autres pathologies bénignes ont des activités réduites aussi bien sur leur nombre que sur leur taux.

Je classerai en dehors de tous ces cas la tumeur phyllode qui, comme on le verra, a un profil enzymatique particulier.

DIFFERENTS CAS ANALYSES

SEIN NORMAL

PATHOLOGIE BENIGNE DU SEIN

- * fibro-adénome
- * cytotéatonecrose

MASTOSE FIBRO-KYSTIQUE

TUMEUR PHYLLODE

CANCER DU SEIN

- * adénocarcinomes
- * carcinome médullaire

SEIN NORMAL - 66 - 67 -

Les deux biopsies que nous avons analysées proviennent de deux femmes qui présentaient des lésions très localisées. En dehors de celles-ci, l'histologie a conclu à une glande mammaire normale :

- la première âgée de 49 ans était suspecte d'une maladie de Paget du sein.
- la seconde âgée de 25 ans était porteuse d'une galactophorite suppurée

Ce dernier profil enzymatique doit être considérée comme notre référence bien qu'il existe peut-être des variations cycliques.

On constate le peu d'activités existantes (2 - 6 - 10 - 11 - 12 - 15 - 31 - 33 - 34 - 39 - 40 - 43 - 44 et 66) et leurs faibles valeurs.

Le premier diffère par l'existence de quelques activités supplémentaires principalement aminopeptidasiques (47 - 52 - 55 - 58 - 59) et par leurs taux moyens légèrement supérieurs.

	2	
	3	
	4	
	6	
	7	
	8	
	10	
	11	
	12	
	14	
	15	
	18	
	21	
	22	
	23	
	24	
	25	
	27	
	28	
	29	
	31	
	33	
	34	
	36	
	37	
	38	
	39	
	40	
	41	
	43	
	44	
	45	
	46	
	47	
	48	
	49	
	50	
	52	
	53	
	54	
	55	
	56	
	57	
	58	
	59	
	63	
	64	
	65	
	66	
	67	
	68	

PATHOLOGIE BENIGNE DU SEIN

1 - FIBRO-ADENOMES du SEIN - 73 - 80 -

Nous analyserons les deux profils ensemble car à quelques différences près, ils sont superposables. Par rapport au sein normal ils diffèrent par une augmentation du nombre des aminopeptidases. En ce qui concerne les autres activités, il y a simplement une augmentation des taux (environ doublement).

Enfin et surtout il y a apparition de 6-phosphogluconate-deshydrogénase (68) et élévation de la lactase-deshydrogénase (66).

2 - CYTOSTEATONECROSE - 68 -

Le profil se superpose pratiquement au premier cas des seins normaux.

2				
3				
4				
6				
7				
8				
10				
11				
12				
14				
15				
18				
21				
22				
23				
24				
25				
27				
28				
29				
31				
33				
34				
36				
37				
38				
39				
40				
41				
43				
44				
46				
47				
48				
49				
50				
52				
53				
54				
55				
56				
57				
58				
59				
63				
64				
65				
66				
67				
68				

MASTOSE FIBRO-KYSTIQUE

1 - Premier profil - 75 -

Il s'agissait d'une femme de 39 ans. L'histologie a conclu à une association d'une mastose fibro-kystique et d'une mastite suppurée. À noter que la mastose contenait plusieurs foyers d'adénomatose sclérosante. Ceci explique sans doute l'importante activité enzymatique par rapport à tous nos autres cas ; trois activités tranchent (11 - 12 - 44).

2 - Second et troisième profils - 72 - 76 -

Si l'on élimine la présence dans le second des activités 23 - 24 - 25 et 27 - 48 et 55, ces deux profils sont assez voisins.

Par rapport au sein normal, outre le nombre des activités présentes, la différence se situe essentiellement sur le taux de quelques unes d'entre elles :

- β galactosidase (14)
- α L-aspartyl-aminopeptidase (38)
- L-arginine-aminopeptidase (39)

On voit donc qu'il y a multiplication et progression des enzymes ce qui nous permet de passer à l'étude des adénocarcinomes où ce phénomène est accentué.

	2		
	3		
	4		
	5		
	7		
	8		
	10		
	11		
	12		
	14		
	15		
	18		
	21		
	22		
	23		
	24		
	25		
	27		
	28		
	29		
	31		
	33		
	34		
	36		
	37		
	38		
	39		
	40		
	41		
	43		
	44		
	45		
	46		
	47		
	48		
	49		
	50		
	52		
	53		
	54		
	55		
	56		
	57		
	58		
	59		
	63		
	64		
	65		
	66		
	67		
	68		

CANCER DU SEIN

- 87 - 88 - 89 -

La première tumeur maligne est un adénocarcinome galactophorique et infiltrant de structure très orthoplasique.

Nous possédons deux biopsies intra-tumorales et une en dehors des lésions.

On constate tout de suite dans les deux premiers profils, une activité arabinosidasique maximale (29). Ils diffèrent simplement par quelques activités aminopeptidases plus élevées dans le second. Ces deux profils apparaissent comme assez pathognomiques des adénocarcinomes.

Le troisième profil concerne un sein non tumoral ; il est cependant très différent du profil constaté dans le sein parfaitement normal et se rapproche des mastoses.

Il diffère cependant de celles-ci par une intense activité deshydrogénasique caractéristique de la cellule néoplasique. Il semble donc qu'au voisinage de l'adénocarcinome, les tissus environnants subissent des modifications métaboliques qui sont peut être un signe avant coureur de colonisation.

	2		
	3		
	4		
	6		
	7		
	8		
	10		
	11		
	12		
	14		
	15		
	18		
	21		
	22		
	23		
	24		
	25		
	27		
	28		
	29		
	31		
	33		
	34		
	36		
	37		
	38		
	39		
	40		
	41		
	43		
	44		
	45		
	46		
	47		
	48		
	49		
	50		
	52		
	53		
	54		
	55		
	56		
	57		
	58		
	59		
	63		
	64		
	66		
	67		
	68		

CANCER DU SEIN

- 85 - 86 - 94 -

Comme dans l'exemple précédent les deux premiers profils appartiennent au même sein ; le premier provient d'un adénocarcinome et le second dans une zone saine.

Sur le zymogramme de la tumeur les conclusions sont les mêmes (activité deshydrogénasique très importante, présence d'arabinosidase -

En ce qui concerne la zone saine il n'existe que très peu d'activités enzymatiques contrairement au cas précédent, mais nous étions plus loin des lésions.

Le troisième profil concerne lui aussi un adénocarcinome. On retrouve toujours le nombre important d'activités aminopeptidasiques et l'importance quantitative des enzymes de la voie des pentoses (63 - 68). L'activité arabinosidase (29) est faible mais il existe, contrairement aux autres cas, peu de phénomènes de nécrose ce qui est peut être une explication?

	2		
	3		
	4		
	6		
	7		
	8		
	10		
	11		
	12		
	14		
	15		
	18		
	21		
	22		
	23		
	24		
	25		
	27		
	28		
	29		
	31		
	33		
	36		
	37		
	38		
	39		
	40		
	41		
	43		
	44		
	45		
	46		
	47		
	48		
	49		
	50		
	52		
	53		
	54		
	55		
	56		
	57		
	58		
	59		
	63		
	64		
	65		
	66		
	67		
	68		

CANCER DU SEIN

- 97 - 92 -

Le premier profil concerne un carcinome médullaire à stroma lymphoïde chez une femme de 85 ans.

Le zymogramme est différent de celui des adénocarcinomes. Il n'existe pas d'arabinosidase et l'activité deshydrogénasique est faible, sauf pour la D-glucose-6-phosphate (63). Par contre il existe de nombreuses aminopeptidases. Il est probable cependant que par rapport au sein d'une femme de 85 ans, le zymogramme est très perturbé ; d'autre part l'histo-pronostic est très favorable.

Le second profil est encore celui d'un adénocarcinome chez une femme de 78 ans. On constate le peu d'enzymes présentes et leurs taux peu élevés ; par contre l'activité arabinosidasique (29) est maximale. Il semble donc que cette dernière puisse vraiment indiquer le diagnostic.

TUMEUR PHYLLODE - 70 -

Nous n'en possédons qu'un cas, et donc les conclusions ne peuvent être définitives. Pratiquement toutes les activités enzymatiques sont présentes et leur somme est la plus importante que nous ayons rencontrée dans les seins. Malgré cela la bénignité est prouvée par l'absence d'arabinosidase.

	2		
	3		
	4		
	6		
	7		
	8		
	10		
	11		
	12		
	14		
	15		
	18		
	21		
	22		
	23		
	24		
	25		
	27		
	28		
	29		
	31		
	33		
	34		
	36		
	37		
	38		
	39		
	40		
	61		
	63		
	44		
	45		
	46		
	47		
	48		
	49		
	50		
	51		
	53		
	54		
	55		
	56		
	57		
	58		
	59		
	63		
	64		
	65		
	66		
	67		
	68		

Deuxième partie

ENDOMETRES

Comme pour la partie consacrée à l'étude des seins nous allons premier étudier chaque activité enzymatique puis établir quelques profils d'endomètres.

- Analyse de chaque activité

Nous avons regroupé nos cas en deux groupes caractérisés chacun par un sigle :

- + adénocarcinomes de l'endomètre
- * hyperplasie et polypes

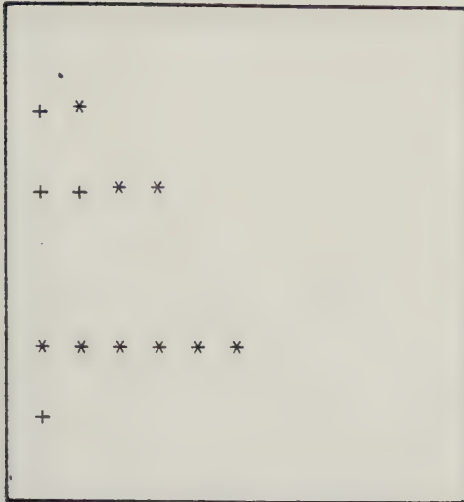
Nous ne connaissons pas le profil de l'endomètre normal. Une approche avait été réalisée par MENEZO et COUTURIER : ils avaient étudié les glaires endo-utérines prélevées par aspiration en recherchant les 20 premières activités enzymatiques de notre série. Ils étaient arrivés à la conclusion qu'il n'existait pas de différence qualitative entre les zymogrammes pré et post-ovulatoires mais que les activités enzymatiques étaient généralement plus importantes dans la deuxième partie du cycle.

Nous avons étudié des endomètres prélevés par biopsie. Etant donné que les prélèvements étaient très hémorragiques, il se surajoute à l'activité propre des tissus une activité enzymatique provenant des hématies. A cela il s'additionne vraisemblablement encore une activité induite, bactérienne étant donné la surinfection de ces endomètres pathologiques.

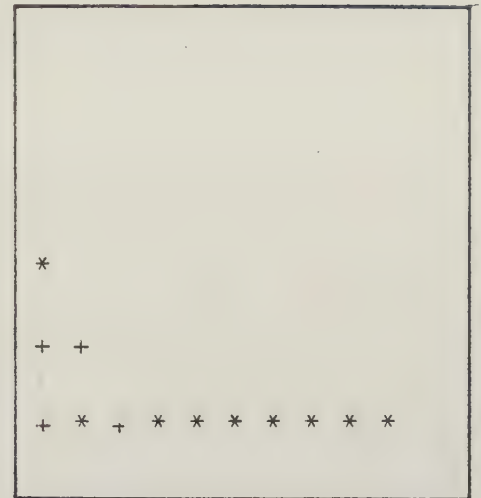
En premier lieu nous allons éliminer les enzymes que nous n'avons jamais rencontrées dans notre série :

- | | |
|-------------------------------|----------------------------------|
| - trypsine (9) | - N-benzoyl-L-leucyl (42) |
| - chymotrypsine (10) | - N-glutaryl-L-phenylalanin (44) |
| - α galactosidase (13) | |
| - α glucosidase (16) | - succinate (69) |
| - α mannosidase (19) | - xanthine (70) |
| - cellobiosidase (30) | |

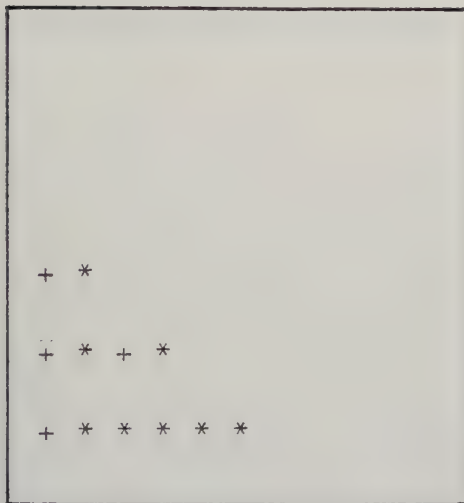
Etude des diverses activités enzymatiques



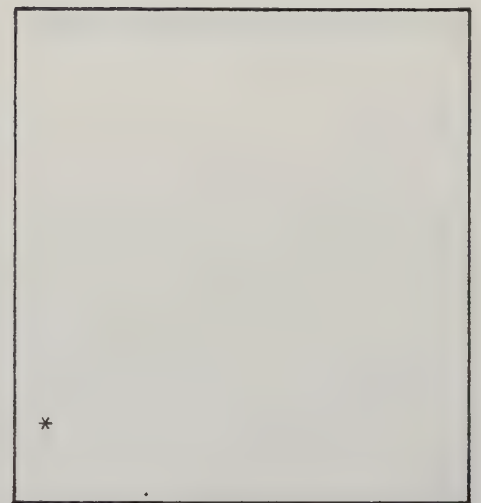
Phosphatase alcaline (2)



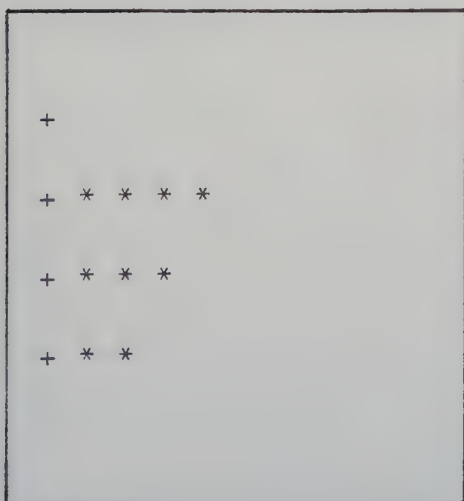
Estérase (3)



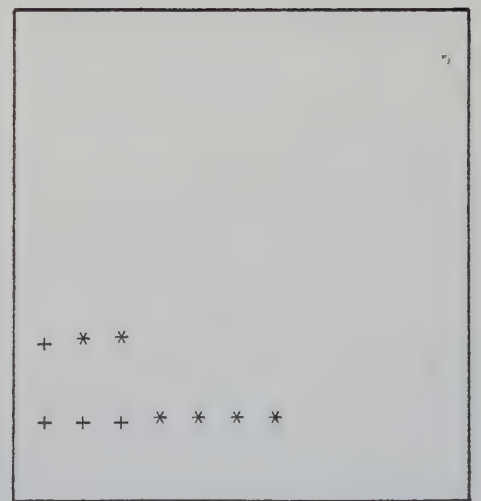
Estérase Lipase (4)



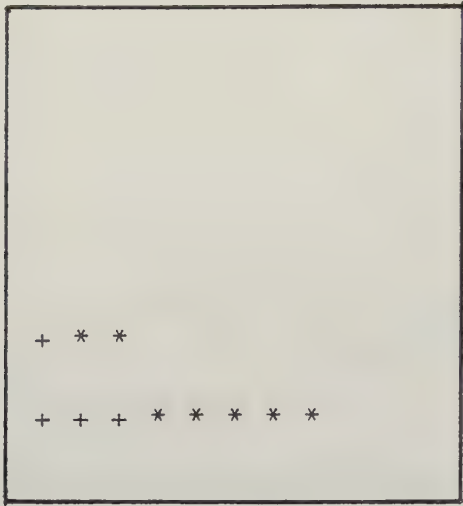
Lipase (5)



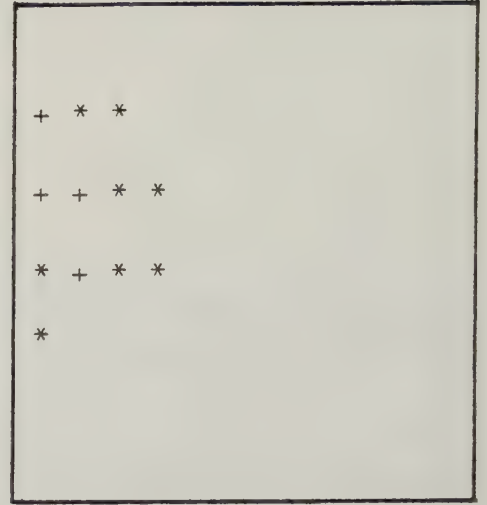
Leucine Aminopeptidase (6)



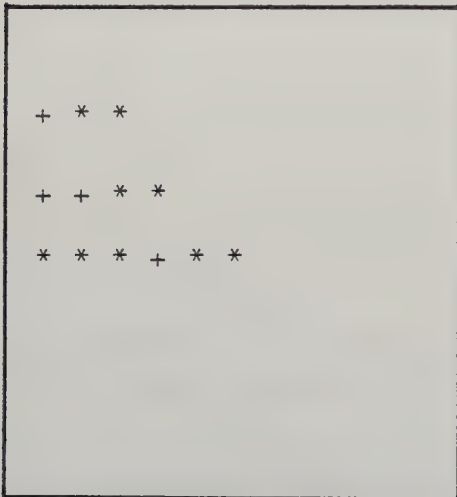
Valine aminopeptidase (7)



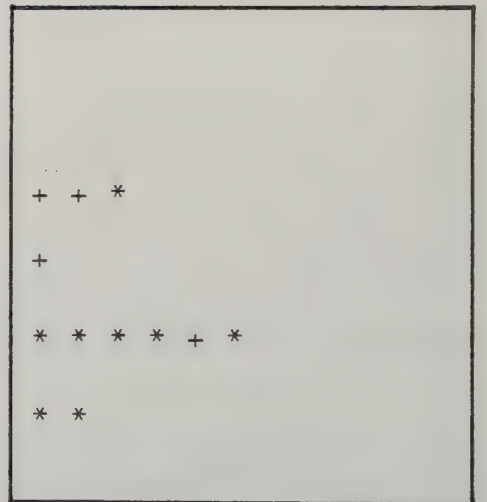
Cystine aminopeptidase (8)



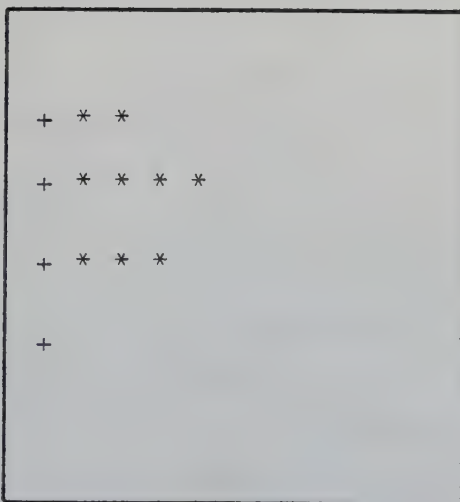
Phosphatase acide (11)



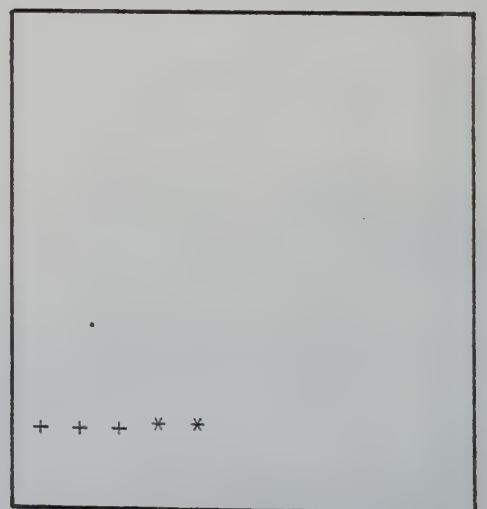
Phosphoamidase (12)



β Galactosidase (14)



β Glucuronidase (15)



β Glucosidase (17)



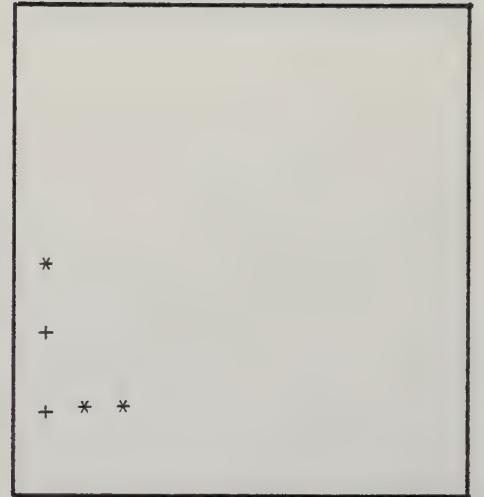
β Glucosaminidase (18)



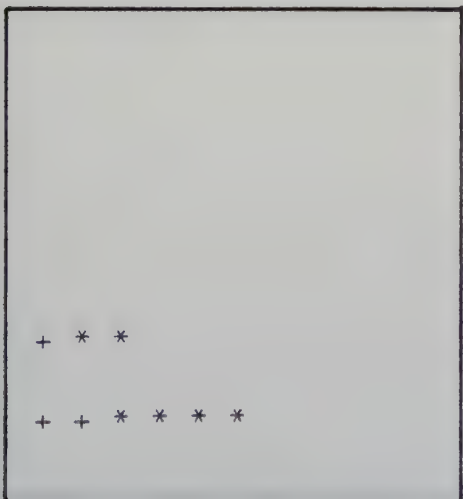
α Fucosidase (20)



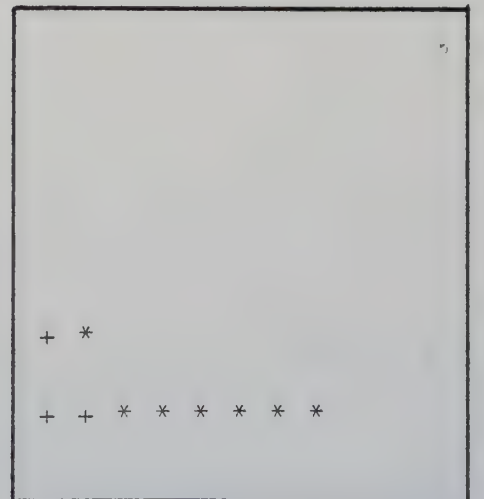
β D Xylosidase (21)



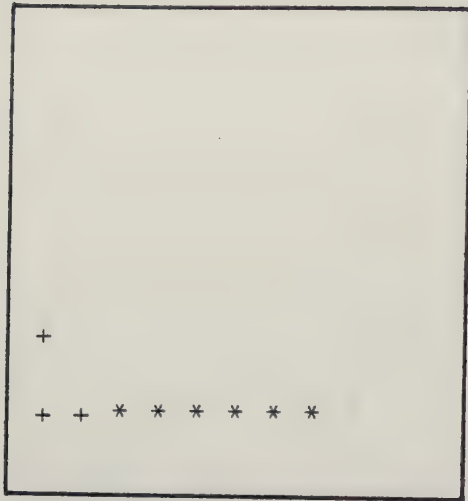
Phosphodiesterase (22)



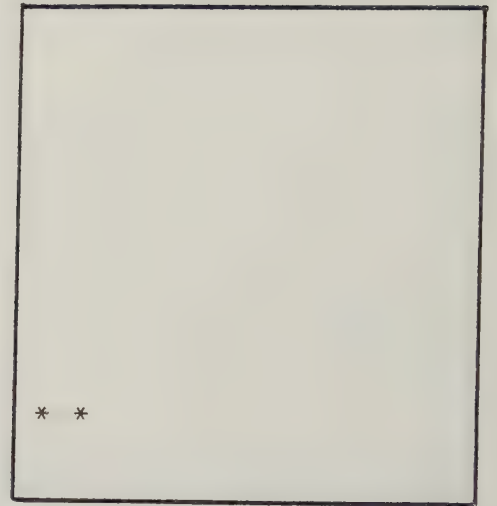
α D Xylosidase (23)



β D Fucosidase (24)



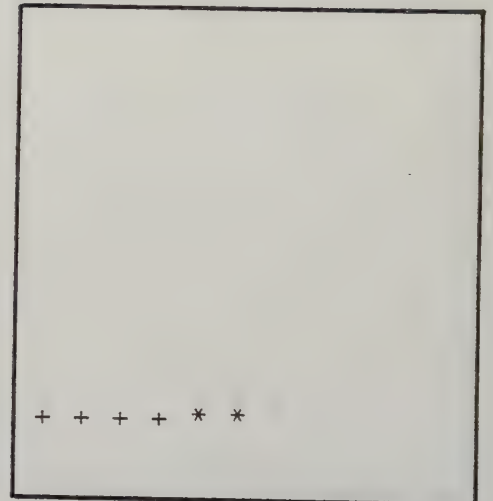
β L Fucosidase (25)



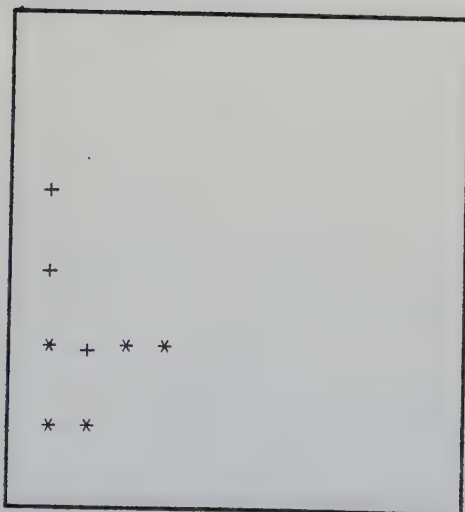
N-acétyl- α -D-glucosaminidase (26)



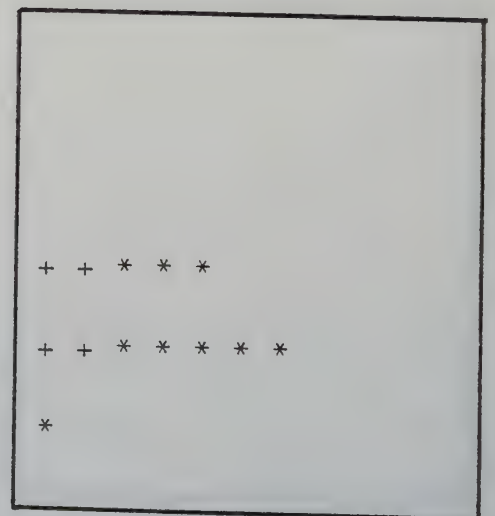
Lactosidase (27)



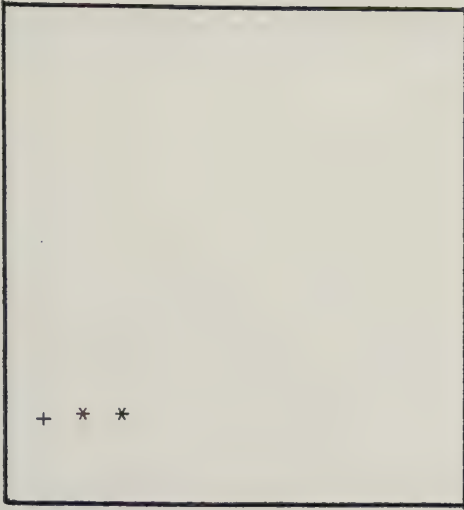
Arylsulfatase (28)



Arabinosidase (29)



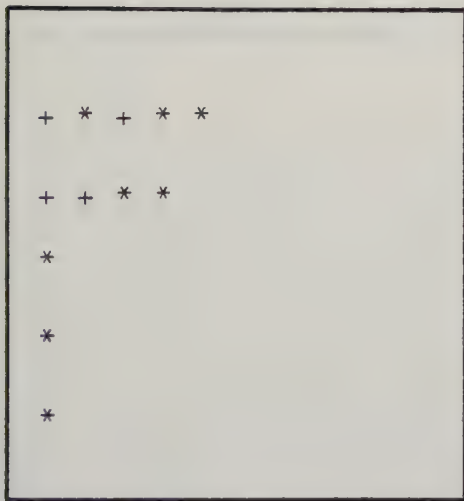
L-tyrosyl- -naphtylamidase (31)



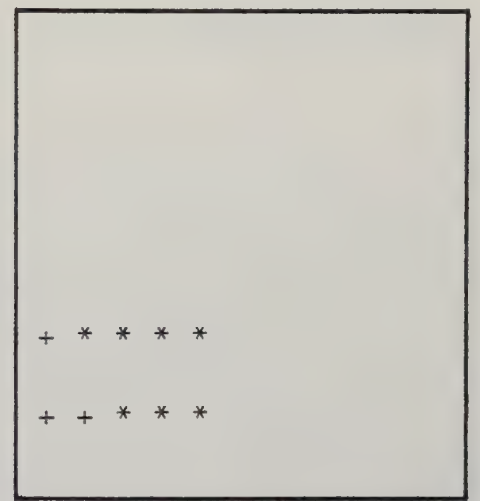
L-pyrrolidonyl- -naphtylamidase (32)



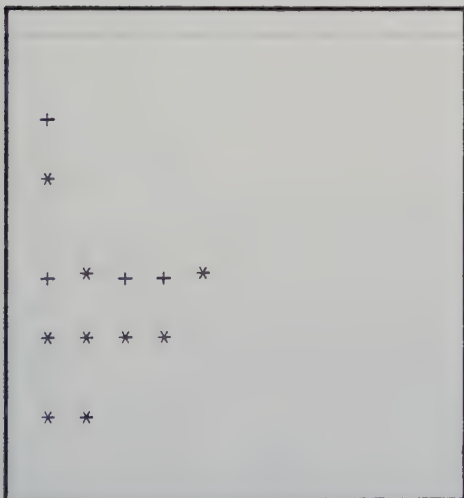
L-phenylalanyl- -naphtylamidase (33)



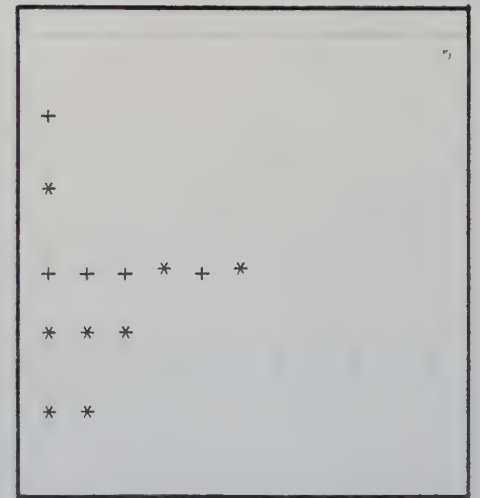
L-lysyl-naphtylamidase (34)



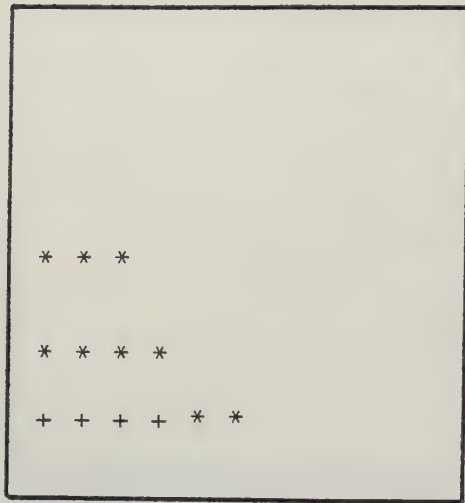
L-hydroxyprolyl-naphtylamidase (35)



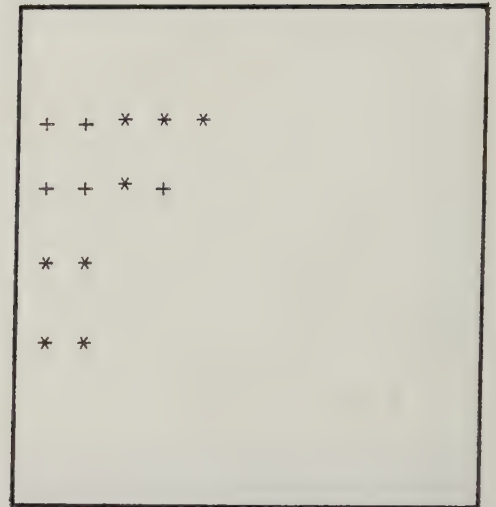
L-histidyl-naphtylamidase (36)



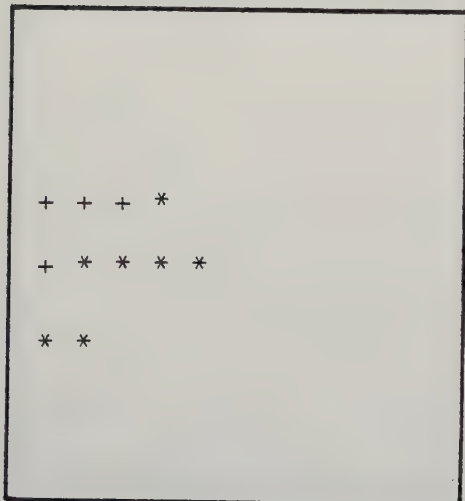
L-glycyl-naphtylamidase (37)



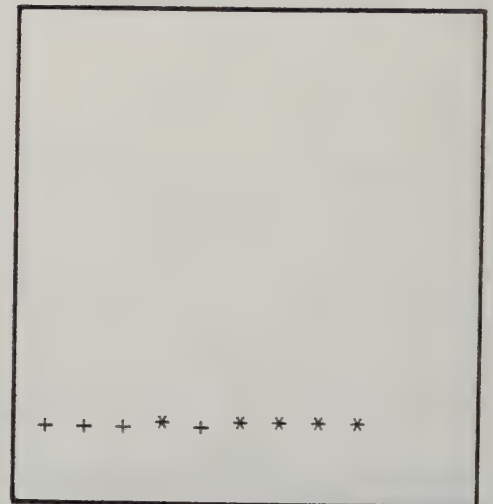
L-aspartyl-naphtylamidase (38)



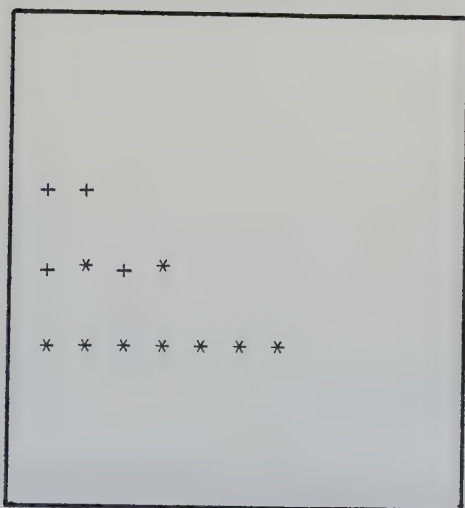
L-arginyl-naphtylamidase (39)



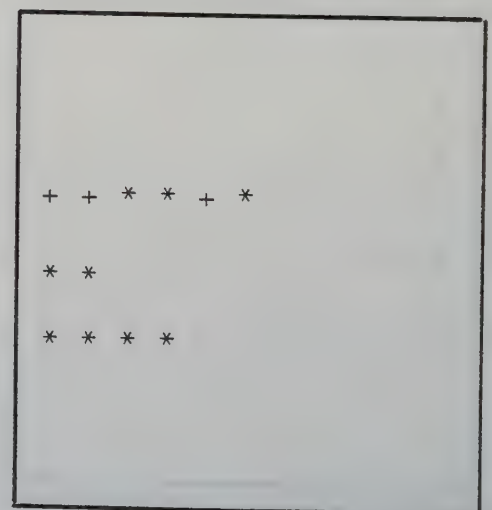
DL-alanyl-naphtylamidase (40)



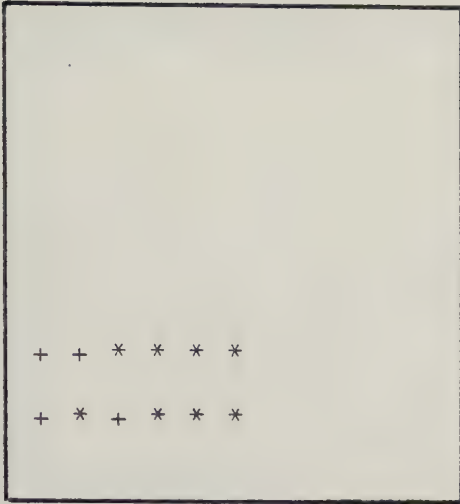
N- -L-glutamyl-naphtylamidase (41)



S-benzoyl-L-cysteine-naphtylamidase (43)



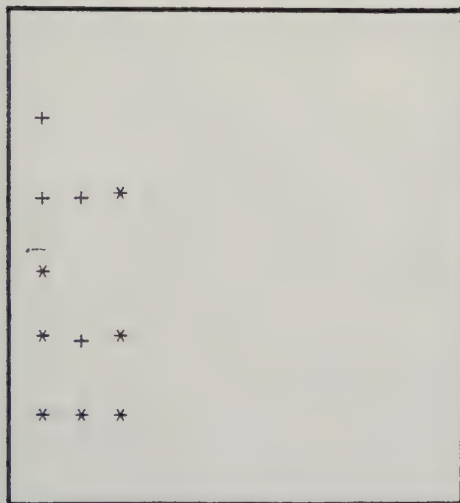
DL-méthionine-naphtylamidase (45)



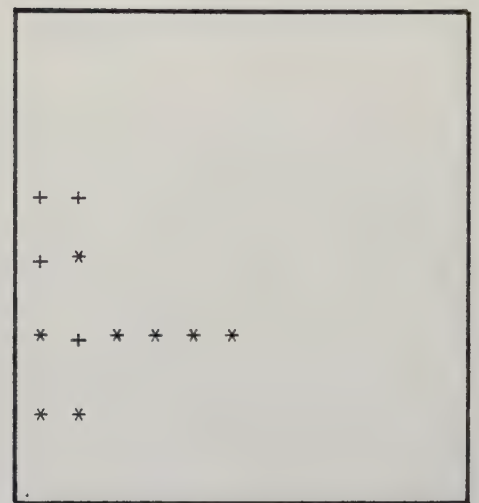
Glycyl-glycine-L-naphtylamidase (46)



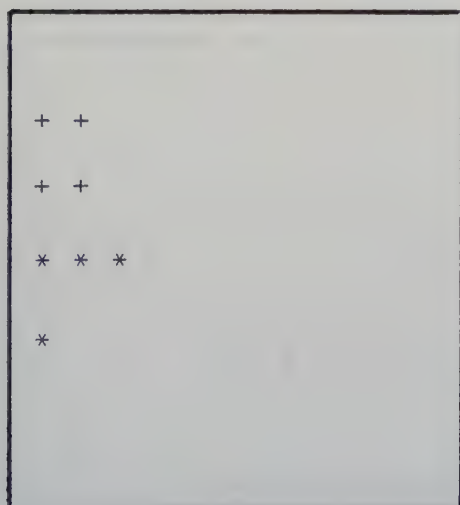
Glycyl-L-phenylalanine-2-naphtylamidase (47)



Glycyl-L-prolyl-naphtylamidase (48)



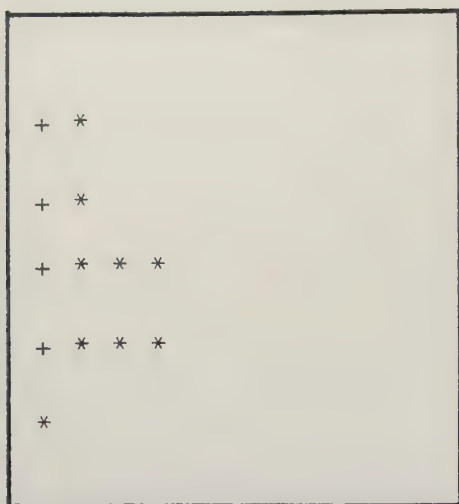
L-leucyl-glycine-naphtylamidase (49)



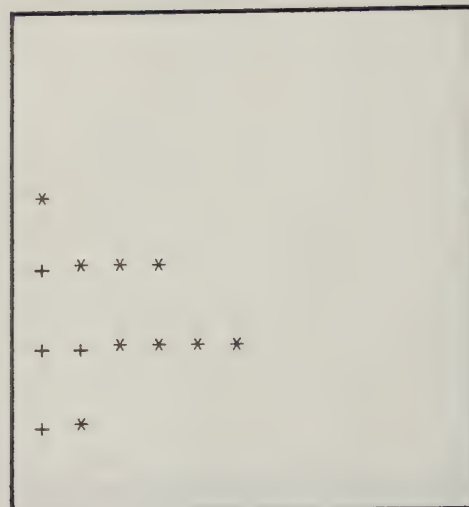
L-seryl-L-tyrosine-naphtylamidase (50)



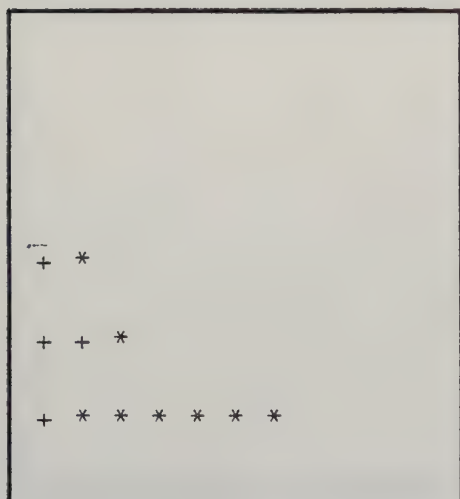
N-CBZ-L-arginine-4-methoxy-naphtylamidase (51)



L-glutamine- -
naphtylamidase (52)



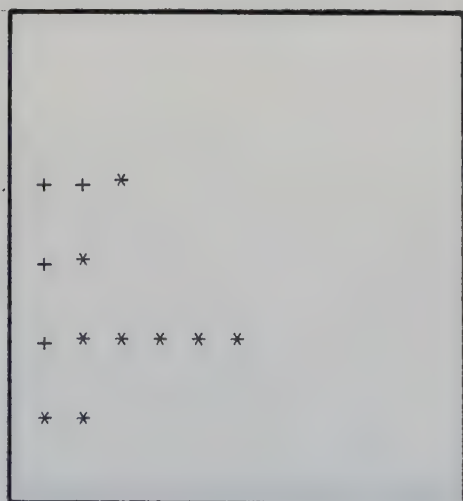
L-glutamyl-naphtylamidase (53)



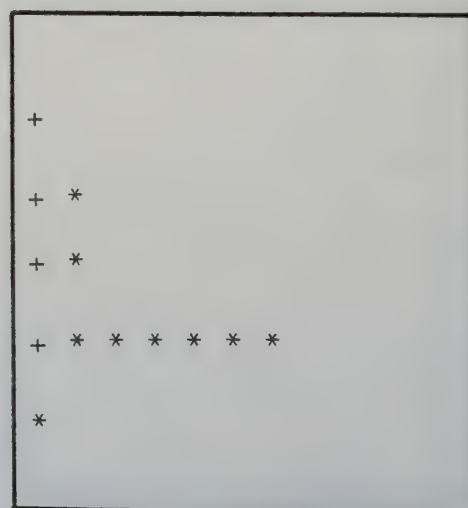
L-isoleucine-
naphtylamidase (54)



L-ornithine-naphtylamidase (55)



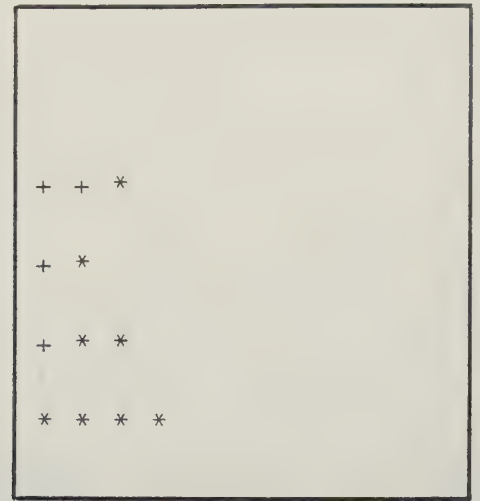
L-proline-
naphtylamidase (56)



L-serine-naphtylamidase (57)



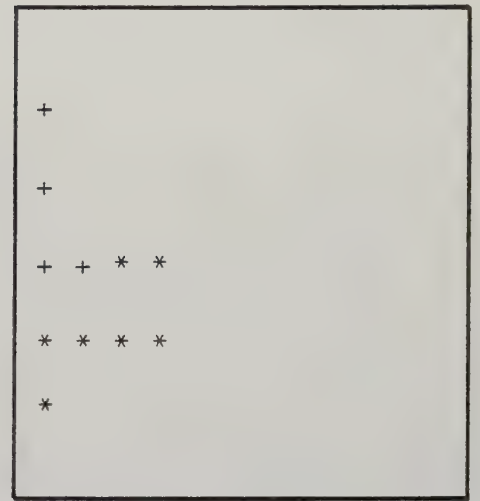
L-threonine-naphtylamidase (58)



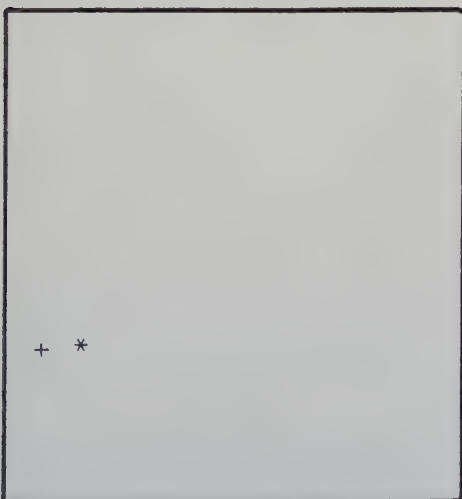
L-tryptophane-naphtylamidase (59)



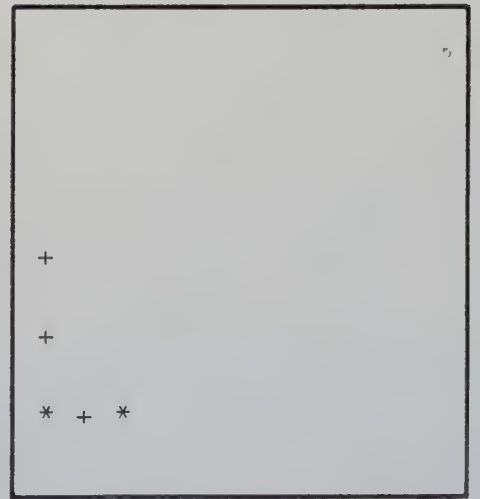
N-CBZ-glycylglycine-L-arginine-naphtylamidase (60)



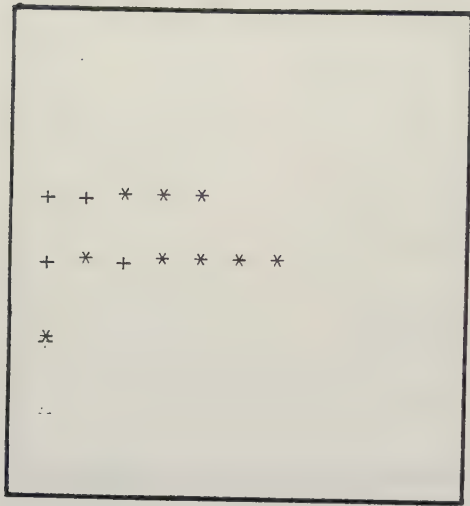
D-glucose-6-phosphate-deshydrogénase (63)



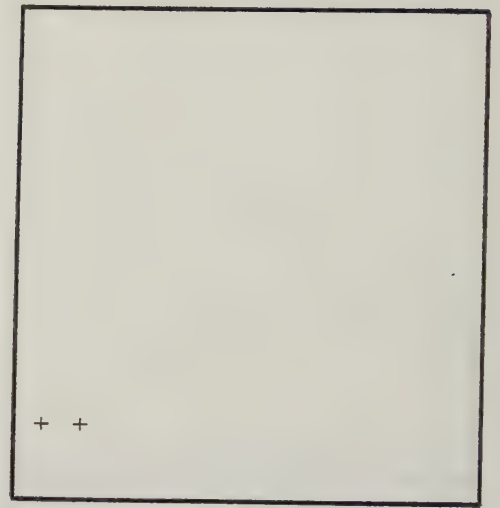
DL-glycerophosphate-deshydrogénase (64)



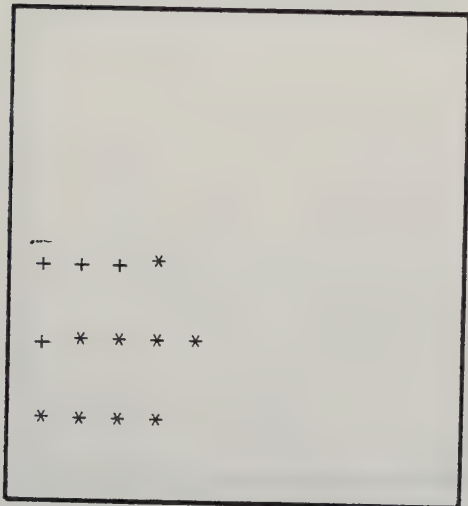
DL-isocitrate-deshydrogénase (65)



L-lactate-deshydrogénase (66)



L- malate-deshydrogénase (67)



6-phosphogluconate-deshydrogénase (68)

D'une manière générale, il apparait que globalement l'activité enzymatique est plus élevée dans les adénocarcinomes.

Quelques activités semblent assez spécifiques de ceux-ci, ou du moins leur activité est plus élevée que dans les endomètres non cancéreux :

- β galactosidase (14)
- arylsulfatase (28)
- DL alanyl-aminopeptidase (40)
- S-benzoyl-L-cystein-aminopeptidase (43)
- glycyl-L-phenylalanine-aminopeptidase (47)
- glycyl-L-prolyl-aminopeptidase (48)
- L-seryl-L-tyrosine-aminopeptidase (50)
- D-glucose-6-phosphate-deshydrogénase (63)
- DL-isocitrate-deshydrogénase (65)
- L-malate-deshydrogénase (67)
- 6-phosphogluconate-deshydrogénase (68)
- N-CBZ-glycylglycine-L-arginine- β -aminopeptidase (60)

L'augmentation porte donc surtout sur les deshydrogénases et surtout sur la L-seryl-L-tyrosine-aminopeptidase qui semble très spécifique de même que l'activité n° 60.

Endomètres non carcinomateux - 105 - 111 - 103 -

Il s'agit de trois hyperplasies de l'endomètre. Comme on le voit l'activité du premier et du troisième profil est assez similaire. Le second quant à lui a des taux dans l'ensemble plus faibles. On peut constater que la différence entre les hyperplasies de l'endomètre et les adénocarcinomes sont finalement assez peu importantes et que dans ce dernier cas il y a exagération le plus souvent des activités enzymatiques.

Nous devons multiplier nos examens, pousser les recherches dans les activités qui différencient endomètre cancéreux et endomètre hyperplasique, afin d'essayer de trouver une possibilité de dépistage du cancer de l'endomètre.

	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	7			
	8			
	11			
	12			
	14			
	15			
	17			
	18			
	20			
	21			
	22			
	23			
	24			
	25			
	26			
	27			
	28			
	29			
	31			
	32			
	33			
	34			
	35			
	36			
	37			
	38			
	39			
	40			
	41			
	43			
	45			
	46			
	47			
	48			
	49			
	50			
	52			
	53			
	54			
	55			
	56			
	57			
	58			
	59			
	60			
	63			
	64			
	65			
	66			
	67			
	68			

Adénocarcinome de l'endomètre - 99 - 102 - 104 -

Les deux premiers profils enzymatiques sont sensiblement les mêmes tant par la quantité d'enzymes présentes que par leur intensité. Ils réalisent vraisemblablement un zymogramme assez spécifique.

Le troisième profil enzymatique est très différent des deux précédents : l'activité générale est beaucoup plus faible.

Ceci peut s'expliquer de trois manières :

- 1° - notre biopsie ne comportait pas que du tissu néoplasique.
- 2° - le type histologique n'est pas exactement le même que le précédent car il s'agit d'un adénocarcinome avec foyers de métaplasie malpighienne.
- 3° - l'activité enzymatique est peut être variable selon les cancers; quoi qu'il en soit il y a présence de l'activité 60 qui, comme nous l'avons vu, semble assez caractéristique.

	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
	7		
	8		
	11		
	12		
	14		
	15		
	17		
	18		
	20		
	21		
	22		
	23		
	24		
	25		
	26		
	27		
	28		
	29		
	31		
	32		
	33		
	34		
	35		
	36		
	37		
	38		
	39		
	40		
	41		
	43		
	45		
	46		
	47		
	48		
	49		
	50		
	52		
	53		
	54		
	55		
	56		
	57		
	58		
	59		
	60		
	63		
	64		
	65		
	66		
	67		
	68		

Troisième partie

MYOMES UTERINS

Dans ce chapitre, nous serons beaucoup plus brefs que dans les précédents car nous avons peu approfondi nos recherches étant donné le faible intérêt pratique qu'il peut en découler.

Nous établirons simplement la liste des activités absentes et présentes dans ces tissus et nous comparerons ensuite le zymogramme d'un myome utérin simple et celui d'un fibrome en voie de nécrobiose.

Activités enzymatiques absentes

- Lipase (5)
- Valine aminopeptidase (7)
- Trypsine (9)
- Chymotrypsine (10)
- α D-galactosidase (13)
- β galactosidase (14)
- α D-glucosidase (16)
- β D-glucosidase (17)
- α D-mannosidase (19)
- α L-fucosidase (20)
- β D-xylosidase (21)
- Phosphodiesterase (22)
- α D-xylosidase (23)
- β D-fucosidase (24)
- β L-fucosidase (25)
- N-acétyl- α D-glucosaminidase (26)
- Lactosidase (27)
- Arylsulfatase (28)
- Arabinosidase (29)
- Cellobiosidase (30)
- L-pyrrolidonyl- β -naphtylamidase (32)
- L-hydroxypropyl-naphtylamidase (35)

- N- γ -L-glutamyl-naphtylamidase (41)
- N-benzoyl-L-leucyl-naphtylamidase (42)
- DL-méthionine (45)
- Glycyl-L-prolyl-naphtylamidase (48)
- L-seryl-L-tyrosine-naphtylamidase (50)
- N-CBZ-L-arginine-4-methoxy- p -naphtylamidase (51)
- N-CBZ-glycylglycine-L-arginine- β -naphtylamidase (60)
- DL-isocitrate (NADP) (65)
- succinate (69)
- Xanthine (70)

MYOMES UTERINS

- 113 - 114 -

Ce qui semble caractériser ces deux profils est le peu d'activités rencontrées.

Le premier (nécrobiose) diffère du second par la diminution de l'intensité des réactions enzymatiques et par la disparition de l'une d'entre elles (DL alanyl aminopeptidase -40-).

Il n'existe donc pas d'activités bien spécifiques des myomes utérins quelle que soit leur histologie.

	2	
	3	
	4	
	6	
	8	
	11	
	12	
	15	
	18	
	31	
	33	
	34	
	36	
	37	
	38	
	39	
	40	
	43	
	46	
	46	
	47	
	49	
	52	
	53	
	54	
	55	
	56	
	57	
	58	
	59	
	63	
	66	
	68	

Quatrième partie

COL UTERIN

Comme pour le chapitre précédent nous ne possédons pas de nombreux cas et nous ferons seulement des constatations et n'établirons pas de conclusions.

1 - Exocol - 115 -

Nous ne connaissons pas le profil d'un col sain. Le zymogramme que nous présentons est celui d'un carcinome épidermoïde. Il ne possède que 32 activités à des taux assez bas. Cependant, comme dans toutes cellules néoplasiques, nous constatons la présence de nombreuses deshydrogénases (63 - 64 - 66 - 67 - 68 - 70). C'est le seul cas dans toutes nos analyses où nous avons rencontré cette dernière.

2 - Endocol - 117 - 129 -

Comme pour l'exocol nous n'avons pas de référence. Le premier profil est celui d'un adénocarcinome de l'endocol, mais l'histologie n'a pu trancher formellement entre tumeur primitive de l'endocol et extension d'un adénocarcinome de l'endomètre au niveau de l'endocol. Quoi qu'il en soit le profil se superpose pratiquement sur celui décrit dans les adénocarcinomes de l'endomètre, avec activités enzymatiques intenses et surtout présence de N-CBZ-glycylglycine-L-arginine-aminopeptidase (60) caractéristique.

Le second zymogramme correspond à celui d'un pseudo-polype inflammatoire du col utérin. L'analyse ne met en évidence rien de particulier, si ce n'est le peu d'activités.

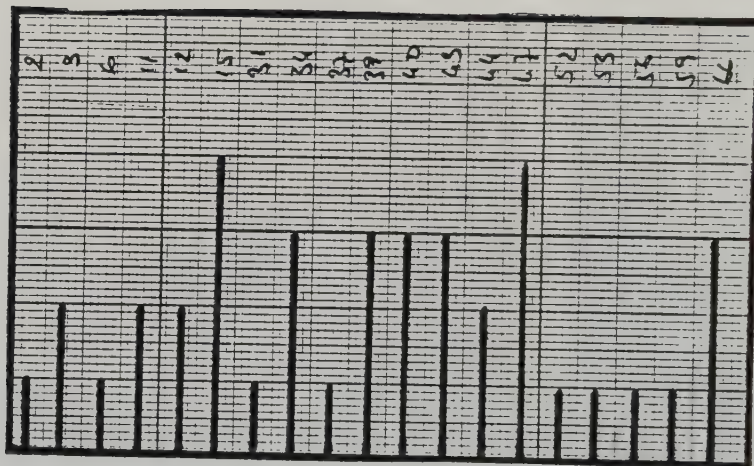
	2
	3
	4
	6
	7
	10
	11
	12
	14
	15
	18
	31
	33
	34
	39
	60
	61
	63
	65
	68
	52
	55
	56
	57
	58
	59
	63
	64
	64
	67
	68
	70

	2
	3
	4
	6
	7
	8
	11
	12
	13
	14
	15
	16
	17
	18
	20
	21
	22
	35
	36
	33
	34
	35
	36
	37
	38
	39
	60
	63
	64
	65
	66
	67
	68
	69
	52
	53
	54
	55
	56
	57
	58
	59
	60
	63
	66
	68

KYSTE DU PARAOPHORE

Le profil que nous étudions est celui du liquide contenu dans le kyste.

Comme on pouvait s'y attendre l'activité enzymatique est très réduite. Deux seuls taux sont relativement importants, celui de la β glucuronidase (15) et celui de la glycyl-L-phenylalanine-aminopeptidase (47).



Cinquième partie

OVAIRES

Nous n'allons pas étudier chaque activité enzymatique différente étant donné la diversité histologique des cas étudiés et l'impossibilité, comme pour les seins par exemple, de pratiquer des regroupements.

Nous allons donc d'abord citer les activités enzymatiques que nous n'avons jamais rencontrées et ensuite étudier cas par cas chaque zymogramme.

Activités absentes

- Lipase (5)
- trypsine (9)
- chymotrypsine (10)
- α galactosidase (13)
- α glucosidase (16)
- α mannosidase (19)
- N-acétyl- α -D-glucosaminidase (26)
- lactosidase (27)
- cellobiosidase (30)
- L-pyrrolidonyl-aminopeptidase (32)
- N- γ -L-glutamyl " (41)
- N-benzoyl-L-leucyl " (42)
- L-seryl-L-tyrosyl " (50)
- N-CBZ-arginine-4-méthoxy-aminopeptidase (51)
- succinate-deshydrogénase (69)
- xanthine " (70)

OVAIRE NORMAL

- 119 - page 112 - 121 -

Les trois ovaires que nous étudions ont été prélevés à différentes périodes de la vie génitale.

Le premier profil concerne un ovaire contenant un volumineux kyste folliculaire. L'activité enzymatique est moyenne et par rapport aux deux autres profils on note la présence de L-leucyl-L-glycine (49) et de L-glutamyl (53). Nous avons noté la présence d' α glucosidase (16); nous n'en avons jamais rencontrée dans tous nos autres cas. Ceci signifie peut être qu'elle n'existe pas en dehors du liquide folliculaire.

Le deuxième profil est celui d'un ovaire prélevé pendant la grossesse et dont nous avons déjà parlé à la page .

Le troisième profil est celui d'un ovaire post-ménopausique. A une activité prés (D-glucose-6-phosphate (63) il se superpose exactement à l'ovaire "gravidique".

En conclusion l'ovaire non malade a une activité enzymatique très moyenne.

Year	Month	Day	Time	Location	Activity	Remarks
2020	1	2	10:00	Home	Reading	
2020	1	3	10:00	Home	Reading	
2020	1	4	10:00	Home	Reading	
2020	1	6	10:00	Home	Reading	
2020	1	7	10:00	Home	Reading	
2020	1	8	10:00	Home	Reading	
2020	1	11	10:00	Home	Reading	
2020	1	12	10:00	Home	Reading	
2020	1	14	10:00	Home	Reading	
2020	1	15	10:00	Home	Reading	
2020	1	17	10:00	Home	Reading	
2020	1	18	10:00	Home	Reading	
2020	1	20	10:00	Home	Reading	
2020	1	21	10:00	Home	Reading	
2020	1	22	10:00	Home	Reading	
2020	1	23	10:00	Home	Reading	
2020	1	24	10:00	Home	Reading	
2020	1	25	10:00	Home	Reading	
2020	1	28	10:00	Home	Reading	
2020	1	29	10:00	Home	Reading	
2020	1	31	10:00	Home	Reading	
2020	2	30	10:00	Home	Reading	
2020	2	31	10:00	Home	Reading	
2020	2	32	10:00	Home	Reading	
2020	2	33	10:00	Home	Reading	
2020	2	34	10:00	Home	Reading	
2020	2	35	10:00	Home	Reading	
2020	2	36	10:00	Home	Reading	
2020	2	37	10:00	Home	Reading	
2020	2	38	10:00	Home	Reading	
2020	2	39	10:00	Home	Reading	
2020	2	40	10:00	Home	Reading	
2020	2	43	10:00	Home	Reading	
2020	2	44	10:00	Home	Reading	
2020	2	45	10:00	Home	Reading	
2020	2	46	10:00	Home	Reading	
2020	2	47	10:00	Home	Reading	
2020	2	48	10:00	Home	Reading	
2020	2	49	10:00	Home	Reading	
2020	2	52	10:00	Home	Reading	
2020	2	53	10:00	Home	Reading	
2020	2	54	10:00	Home	Reading	
2020	2	55	10:00	Home	Reading	
2020	2	56	10:00	Home	Reading	
2020	2	57	10:00	Home	Reading	
2020	2	58	10:00	Home	Reading	
2020	2	59	10:00	Home	Reading	
2020	2	60	10:00	Home	Reading	
2020	2	63	10:00	Home	Reading	
2020	2	64	10:00	Home	Reading	
2020	2	65	10:00	Home	Reading	
2020	2	66	10:00	Home	Reading	
2020	2	67	10:00	Home	Reading	
2020	2	68	10:00	Home	Reading	

PATHOLOGIE OVARIENNE BENIGNE

- 120 - 125 - 118 -

Le premier profil concerne un ovaire caractérisé par de multiples kystes de toute nature (folliculaire, corps jaunes hémorragique). A quelques activités près (8 - 14 - 24 - 25 - 48) il se superpose aux cas étudiés à la page précédente.

Le second zymogramme est celui d'un kyste endométrial. Les aminopeptidases sont en plus grand nombre que dans le premier profil, mais l'activité générale reste toujours assez basse.

Le dernier cas étudié est un fibrome de l'ovaire, il se distingue par la présence de chymotrypsine (10), de N- γ -L-glutamyl (41) et par une activité deshydrogénasique plus importante (63 - 65 - 66 - 68).

	2			
	3			
	4			
	6			
	7			
	8			
	11			10
	12			
	14			
	15			
	17			
	18			
	20			
	21			
	22			
	23			
	24			
	25			
	28			
	29			
	31			
	33			
	34			
	35			
	36			
	37			
	38			
	39			
	40			41
	43			
	44			
	45			
	46			
	47			
	48			
	49			
	52			
	53			
	54			
	55			
	56			
	57			
	58			
	59			
	60			
	63			
	64			
	65			
	66			
	67			
	68			

CYSTADENOME SEREUX

- 128 - 122 -

Le premier profil concerne un cystadénome séreux "sans suspicion de malignité". Rien de particulier ne se dégage de l'étude du profil qui est similaire aux autres cas étudiés précédemment.

Le second profil est celui d'un cystadénome séreux de malignité limite. On constate, par rapport au premier, l'apparition de nouvelles activités enzymatiques, et surtout, l'augmentation des taux pour les autres enzymes. Il y a progression nette par rapport à l'ovaire normal et ce profil est intermédiaire entre la pathologie bénigne et les cancers de l'ovaire que nous allons étudier.

	2	
	3	
	4	
	6	
	7	
	8	
	11	
	12	
	14	
	15	
	17	
	18	
	20	
	21	
	22	
	23	
	24	
	25	
	28	
	29	
	31	
	33	
	34	
	35	
	36	
	37	
	38	
	39	
	40	
	43	
	44	
	45	
	46	
	47	
	48	
	49	
	52	
	53	
	54	
	55	
	56	
	57	
	58	
	59	
	60	
	63	
	64	
	65	
	66	
	67	
	68	

TUMEUR MALIGNE DE L'OVAIRE

1 - adénocarcinome endométrioïde - 127 -

Les activités, si elles sont nombreuses, ont dans la majorité des cas des taux peu importants. Une exception doit être faite comme toujours dans les cancers pour les deshydrogénases de la voie des pentoses.

Comme dans le cancer du sein nous notons la présence d'arabinosidase absente des ovaires non néoplasiques.

2 - cystadénocarcinome séreux - 123 - 126 -

Nous regroupons les deux profils car ils sont très superposables. Ils diffèrent du précédent uniquement par l'intensité des réactions, en particulier 29 (taux maximal) - 11 - 12 et toutes les aminopeptidases. Les deshydrogénases quant à elles ont des valeurs similaires.

En conclusion, on constate que ces trois profils diffèrent complètement de ceux concernant la pathologie bénigne.

	2				
	3				
	4				
	6				
	7				
	8				
	11				
	12				
	16				
	15				
	17				
	19				
	20				
	21				
	22				
	23				
	24				
	25				
	28				
	29				
	31				
	33				
	34				
	35				
	36				
	37				
	38				
	39				
	40				
	43				
	44				
	45				
	46				
	47				
	48				
	49				
	52				
	53				
	54				
	55				
	56				
	57				
	58				
	59				
	60				
	63				
	64				
	65				
	66				
	67				

C O N C L U S I O N

Comme nous l'avions annoncé en introduction, tout ce travail était préliminaire, et les conclusions que nous avons pu tirer au long de cet exposé, ne peuvent être définitives. Elles demandent de multiples analyses pour vérifier leur exactitude ou au contraire pour les infirmer.

Cependant, quels que soient les résultats ultérieurs, cette première étude aura prouvé tout l'intérêt de la méthode, la richesse des renseignements qu'elle peut fournir et sa fiabilité par rapport aux autres techniques d'analyses enzymatiques.

Nous nous étions fixés deux objectifs :

- faire un inventaire des activités enzymatiques présentes dans les différents domaines étudiés. Pour les liquides amniotiques, il aura permis d'inventorier de nouvelles enzymes, et avec celles antérieurement recherchées, nous possédons maintenant une liste de 140 activités présentes. Pour les tissus, nous n'avons que peu de références, en dehors de celles fournies par l'histo-enzymologie. Il a été possible de dresser un inventaire précis de chaque organe et confirmer par exemple que dans les cellules néoplasiques, la voie des pentoses est préférentielle. D'autre part certaines activités sont, semble-t-il, pathognomoniques de certains cancers (arabinosidase et N-CBZ-glycyl-glycine-L-arginine- β -aminopeptidase).

- le deuxième objectif était d'essayer de réaliser des profils enzymatiques. Pour les liquides il semble bien que des anomalies pathologiques modifient le profil moyen, mais encore une fois la multiplicité des origines enzymatiques et le grand nombre de facteurs pouvant intervenir, ne nous permettent pas pour l'instant de faire correspondre un zymogramme avec une pathologie déterminée. Pour les tissus il semble plus facile de pratiquer une identification d'origine (col, sein ...) et une appréciation de l'état pathologique.

Maintenant que nous avons dégrossi le sujet, nous devons atteindre d'autres objectifs, quantitatifs et qualitatifs. Il faut multiplier nombre de cas et affiner nos dosages : il serait par exemple intéressant

de doser l'arabinosidase par spectrophotométrie pour vérifier nos conclusions.

Le but ultime de la méthode réside dans le dépistage, soit d'une souffrance foetale, soit d'un cancer de l'endomètre entre autre.

Mais ceci n'est pas possible pour l'instant avec nos techniques de prélèvement. Pour remplacer l'amniocentèse nous devons essayer de trouver s'il existe une corrélation entre les taux enzymatiques du liquide amniotique et le sérum ou les urines maternelles. Nous devons essayer de pratiquer des lavages utérins afin de remplacer les curetages biopsiques.

D'autres domaines peuvent être explorés comme par exemple la glaire cervicale pendant le cycle et ses éventuelles modifications au moment de l'ovulation ou dans certains cas de stérilité.

Des améliorations techniques peuvent être apportées à la lecture et à l'interprétation des résultats. En effet, l'oeil se fatigue très rapidement à la lecture de nombreuses plaquettes, ce qui peut induire des erreurs. Une lecture automatique comme elle est déjà envisagée, améliorerait l'exactitude. Enfin il serait intéressant lorsque nous aurons de plus grandes séries, de faire analyser les résultats par informatique pour faire apparaître peut être d'autres différences significatives.

No	Date	Echantillon	-1-	Incubation	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
					0	5	3	4	2	5	3	2	0	2	3	2	0	0	1	1	0	0	0	0	1
					0	0	3	3	1	5	2	2	0	0	4	3	0	0	2	2	1	0	0	0	1
					0	0	5	3	2	5	4	2	3	0	3	2	0	0	3	2	0	0	0	0	2
					0	0	5	3	0	5	1	0	0	0	4	2	0	0	3	1	0	0	0	0	5
					0	0	5	2	3	5	4	0	0	0	2	4	0	0	1	0	0	0	0	0	6
					0	0	5	3	1	3	3	0	0	0	3	2	0	0	1	0	0	0	0	0	7
					0	0	5	3	0	3	1	0	0	0	4	3	0	0	1	0	0	0	0	0	8
					0	0	5	3	0	4	1	1	0	0	4	3	0	0	2	0	0	0	0	0	9
					0	0	5	3	0	5	1	1	0	0	4	3	0	0	3	0	0	0	0	0	10
					0	0	5	3	0	5	1	1	0	0	4	3	0	0	1	1	0	0	0	0	11
					0	0	5	3	0	5	2	2	0	0	5	4	0	0	3	3	0	0	0	0	12
					0	0	5	3	0	5	1	1	0	0	5	3	0	0	2	2	0	0	0	0	13
					0	0	5	3	1	5	1	3	0	0	5	3	0	0	2	1	0	0	0	0	14
					0	0	5	3	2	5	2	3	0	0	5	3	0	0	3	2	0	0	0	0	15
					0	0	5	3	3	5	2	1	0	0	5	4	0	0	3	2	0	0	0	0	16
					0	0	5	3	0	5	1	0	0	0	5	2	0	0	1	1	0	0	0	0	17
					0	0	5	3	0	5	5	3	0	0	5	5	0	0	5	4	0	0	0	0	18
					0	0	5	3	0	5	3	1	0	0	5	3	0	0	2	0	0	0	0	0	19
					0	0	5	3	1	5	1	1	0	0	5	3	0	0	1	1	0	0	0	0	20
					0	0	5	3	2	5	3	1	0	0	5	3	0	0	2	1	0	0	0	0	21

9	Date	Echantillon	-2-	Incubat.																																					
				21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40																		
				2	0	1	1	1	0	1	0	0	0	3	0	5	4	0	4	5	3	5	5	5	1																
				0	0									0	0	1	2	0	0	2	1	2	3	2																	
					2									1	1	2	5	2	2	3	5	5	5	3																	
														0	0	0	1	0	0	1	0	1	5	4																	
														2	0	2	2	0	1	2	2	2	3	6																	
														0	0	1	0	0	0	2	1	3	4	4																	
														0	0	0	1	0	0	1	0	1	2	9																	
														0	0	0	1	0	1	0	0	1	2	10																	
														3	0	1	2	0	3	2	2	3	3	11																	
														0	0	1	2	0	1	2	2	2	4	12																	
														0	0	0	1	0	0	0	1	1	2	13																	
														0	0	1	2	0	0	1	1	1	3	14																	
														0	0	0	2	0	0	1	1	2	3	15																	
														0	0	1	2	0	0	1	1	2	3	16																	
														1	0	3	3	0	1	2	2	2	5	17																	
														2	0	5	5	0	2	5	5	5	5	18																	
														1	0	1	2	0	0	2	0	1	5	19																	
														1	1	1	2	0	1	1	1	2	3	20																	
														0	1	1	2	0	0	2	2	3	4	21																	

NO	Date	Echantillon	-3-	Incubation	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	
					3	0	4	5	0	3	5	5	3	5	0	4	4	3	3	1	2	2	3	0	1
					3	0	0	3	1	2	5	2	0	0	0	2	2	0	2	0	0	0	0	0	2
					4	0	1	4	2	2	5	2	2	0	1	3	2	2	3	0	1	1	1	1	3
					3	0	0	2	1	1	3	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	4	
					0	0	4	4	5	5	5	5	5	0	0	4	4	4	5	1	4	3	4	5	
					1	0	1	3	0	2	3	0	1	0	0	2	2	1	1	0	1	1	2	6	
					1	0	2	4	0	2	4	0	0	0	0	2	1	1	1	0	1	1	2	7	
					4	0	0	4	1	2	5	1	1	0	0	2	2	0	2	0	0	0	0	8	
					2	0	0	2	0	0	5	0	0	0	0	1	2	0	1	0	0	0	0	9	
					2	0	0	2	0	0	5	0	0	0	0	1	2	0	1	0	0	0	0	10	
					1	0	5	3	1	1	4	1	0	0	0	2	3	1	1	0	0	0	0	11	
					3	1	1	3	1	2	4	2	1	0	0	1	2	0	1	0	0	0	0	12	
					2	0	0	2	0	0	5	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	13	
					1	0	0	3	1	1	4	1	0	0	0	2	3	1	1	0	0	0	1	14	
					3	0	0	1	2	5	1	1	0	0	1	2	2	0	2	0	0	0	0	15	
					4	0	0	3	1	1	5	1	0	0	1	1	1	0	2	0	0	0	0	16	
					3	0	0	4	0	0	5	0	0	0	1	2	0	1	1	0	0	0	0	17	
					4	0	2	5	5	5	5	5	5	0	5	5	5	4	5	2	4	2	4	18	
					1	0	1	4	1	1	4	0	2	0	2	2	0	1	0	0	0	0	0	19	
					2	1	0	2	1	0	0	0	0	0	1	2	1	0	0	0	0	1	1	20	
					2	0	0	3	0	1	4	1	1	0	1	2	1	2	2	0	0	0	1	21	

[illegible]

No	Date	Echantillon	-5-	Incubation	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
					0	5	3	2	1	3	2	0	0	0	5	4	0	0	2	0	0	2	0	0
					0	3	3	2	1	5	2	1	0	0	2	2	0	0	1	0	0	0	0	0
					0	4	4	4	0	4	1	0	0	0	5	4	0	0	1	0	0	2	0	0
					0	3	3	3	0	4	1	0	0	0	4	4	0	0	1	0	0	1	0	0
					0	5	4	4	0	4	2	0	0	0	5	3	0	0	2	1	0	2	0	0
					0	4	3	3	0	2	0	1	0	0	4	3	0	0	1	0	0	1	0	0
					0	3	2	1	0	3	1	0	0	0	2	2	0	0	1	0	0	2	0	0
					0	4	4	3	0	3	4	0	0	0	3	3	0	0	2	0	0	2	0	0
					0	3	4	4	0	4	1	1	0	0	3	3	0	0	3	0	0	0	0	0
					0	3	4	2	0	3	1	1	0	0	2	2	0	0	1	0	0	1	0	0
					0	4	4	4	0	4	0	0	0	0	2	2	0	0	1	0	0	2	0	0
					0	5	5	5	0	5	1	0	0	0	2	2	0	0	2	0	0	1	0	0
					0	3	3	3	0	5	1	0	0	0	5	4	0	0	1	0	0	2	0	0
					0	5	0	1	0	4	2	0	0	0	5	5	0	0	2	4	0	4	0	0
					0	5	0	1	0	4	4	0	0	0	5	5	0	0	4	3	0	2	0	0
					0	4	0	1	0	2	1	0	0	0	4	3	0	0	2	0	0	2	0	0
					0	4	1	1	1	2	1	0	0	1	3	3	0	0	1	0	0	1	0	0
					0	5	0	0	0	2	0	0	0	0	4	3	0	0	2	0	0	1	0	0
					0	5	0	0	0	2	0	0	0	0	4	3	0	0	1	0	0	1	0	0
					0	5	0	0	0	2	0	0	0	0	4	3	0	0	1	0	0	1	0	0
					0	4	0	0	0	2	0	0	0	0	4	4	0	0	1	0	0	1	0	0
					0	4	0	2	0	2	1	0	0	0	4	3	0	0	1	0	0	1	0	0
					0	4	0	1	0	2	0	0	0	0	4	3	0	0	1	0	0	1	0	0
					0	4	0	1	0	2	0	0	0	0	4	3	0	0	1	0	0	1	0	0
					0	4	0	1	0	2	0	0	0	0	4	3	0	0	1	0	0	1	0	0
					0	4	0	1	0	2	0	0	0	0	4	3	0	0	1	0	0	1	0	0
					0	4	0	1	0	2	0	0	0	0	4	3	0	0	1	0	0	1	0	0

Date	Echantillon	-6-	Incubation
			0
			21
			22
			23
			24
			25
			26
			27
			28
			29
			30
			31
			32
			33
			34
			35
			36
			37
			38
			39
			40
			22
			23
			24
			25
			26
			27
			28
			29
			30
			31
			32
			33
			34
			35
			36
			37
			38
			39
			40
			41
			42

No	Date	Echantillon	-7-	Incubat	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
					3	0	0	3	0	1	4	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1
					5	2	2	5	2	2	5	2	3	0	1	3	2	2	2	0	1	0	1	1
					2	0	0	2	0	0	4	0	0	0	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	2	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					3	0	0	3	0	0	4	1	0	0	0	1	1	0	2	0	0	0	0	0
					2	1	0	3	1	1	4	1	0	0	0	1	2	1	1	0	0	0	0	2
					2	0	0	3	0	0	2	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0
					3	0	0	3	1	2	5	3	3	0	0	2	3	1	2	0	0	0	0	0
					2	3	0	3	0	1	4	1	0	0	0	1	2	0	2	0	0	0	0	0
					1	0	0	3	0	0	2	0	0	0	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	2	0	1	4	0	0	0	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0
					1	0	0	2	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	2	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
					2	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1					

Date	Echantillon	-9-	Incuba																		18	19	20	
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17				
				0	3	0	0	0	1	0	0	0	0	3	3	0	0	1	0	0	1	0	0	43
				0	3	0	1	0	1	0	0	0	1	4	3	0	0	1	0	0	1	0	0	44
				0	2	0	1	0	2	0	0	0	1	4	3	0	0	2	0	0	1	0	0	45
				0	3	0	1	0	2	0	0	0	0	4	3	0	0	1	0	0	1	0	0	46
				0	4	1	2	0	3	1	0	0	1	4	3	0	0	2	1	0	0	1	0	47
				0	4	1	2	0	3	1	0	0	1	4	3	0	0	2	0	0	1	0	0	48
				0	3	3	3	0	3	1	0	0	1	4	3	0	0	1	0	0	1	0	0	49
				0	4	2	2	0	4	3	0	0	0	4	4	0	2	4	2	0	1	0	0	50
				0	3	2	2	0	3	1	0	0	4%	4	3	0	0	1	0	0	1	0	0	51
				0	3	2	2	0	1	0	0	0	1	4	2	0	0	1	0	0	1	0	0	52
				0	3	1	1	0	3	1	0	0	1	4	3	0	0	2	0	0	1	0	0	53
				0	4	1	2	0	3	2	0	0	1/6	4	2	0	0	2	0	0	1	0	0	54
				0	5	3	3	1/6	3	1	0	0	1	5	3	0	0	2	0	0	1	0	0	55
				0	5	2	3	0	4	2	0	0	0	4	3	0	0	1	0	0	1	0	0	56
				0	4	1	1	0	2	1	0	0	0	4	4	0	1	1	1	0	2	0	0	57
				0	5	1	3	0	4	1	0	0	0	5	5	0	0	1	1	0	2	0	0	58
				0	4	2	2	0	3	1	0	0	0	5	4	0	0	2	0	0	2	0	0	59
				0	5	2	4	0	4	1	0	0	0	4	3	0	0	1	0	0	2	0	0	60
				0	4	2	2	0	3	1	0	0	0	4	4	0	0	2	0	0	2	0	0	61
				0	4	3	3	0	3	0	0	0	0	4	3	0	0	1	0	0	2	0	0	62
				0	5	3	4	0	5	1	0	0	0	3	3	0	0	2	0	0	2	0	0	63

Date	Echantillon	-10-	Incubat.																			
			21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37		38	39
				1								2	0	2	2	0	1	1	1	2	3	43
				1								2	0	2	3	0	2	2	1	2	3	44
				1								1	0	2	2	0	1	2	2	2	4	45
				1								2	0	2	2	0	1	2	2	2	3	46
				1								2	0	3	3	0	1	2	2	2	4	47
				1								2	0	2	2	0	1	2	2	2	3	48
												2	0	2	2	0	1	2	2	2	3	49
												3	0	4	4	4	4	4	4	4	4	50
												1	0	2	2	0	1	1	1	2	3	51
												1	0	1	1	0	1	1	0	1	2	52
												1	0	2	2	0	1	2	1	2	3	53
												2	0	4	4	0	3	4	1	4	4	54
												1	0	2	2	0	1	1	1	2	2	55
												2	0	3	3	0	2	3	1	4	4	56
				2								2	0	2	2	0	1	2	1	1	3	57
				2								1	0	2	2	0	1	2	0	2	3	58
				2	1							1	0	2	2	0	1	1	1	2	3	59
				2								1	0	2	2	0	1	2	1	2	4	60
				2								2	0	2	2	0	2	2	1	2	3	61
				1								1	0	2	2	0	1	2	1	2	3	62
				2								2	0	3	3	0	1	3	3	3	5	63

Nº	Date	Echantillon	-11-	Incuba	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
					1	0	1	3	0	1	3	1	1	0	0	2	2	2	2	0	1	1	1	2
					1	0	2	3	0	2	3	1	1	0	0	2	3	2	1	0	1	1	1	2
					1	0	1	3	0	2	3	0	0	0	0	2	3	2	1	0	1	1	1	0
					1	0	1	3	0	2	3	1	1	0	0	2	2	1	1	0	1	1	2	2
					1	0	2	5	0	2	4	1	1	0	0	2	3	1	1	0	1	0	1	1
					1	0	1	3	0	1	3	0	0	0	0	2	2	1	1	0	1	1	1	1
					1	0	1	3	0	0	1	3	0	0	0	2	2	1	1	0	1	1	1	1
					2	0	3	5	0	5	5	5	5	5	0	5	5	5	5	0	5	4	5	1
					1	0	1	4	0	0	1	4	1	1	0	2	2	1	1	0	1	1	2	1
					1	0	0	2	0	0	0	3	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1
					1	0	1	3	0	0	2	3	0	1	0	2	2	1	1	0	1	1	2	1
					2	0	2	5	0	3	5	5	4	5	0	5	3	3	1	3	2	4	1	1
					1	0	1/2	2	0	0	4/5	5	0	0	0	2	2	16	1	0	1/6	1	1	1
					1	0	2	5	0	2	5	5	2	4	0	3	2	2	2	0	2	2	3	1
					1	0	1	3	0	1	3	0	1	0	0	2	2	1	1	0	1	1	1	2
					1	0	1	3	1	3	3	0	2	0	0	2	2	1	1	0	1	1	1	1
					1	0	1	3	0	2	3	1	1	0	0	2	2	2	2	0	1	2	1	3
					0	0	1	3	1	2	2	1	2	0	0	2	1	1	1	0	1	2	1	1
					1	0	1	3	0	1	3	1	1	0	0	2	2	1	1	0	1	1	1	1
					1	0	1	3	0	1	3	1	0	0	0	2	2	1	1	0	1	1	1	1
					1	0	1	3	0	1	3	1	0	0	0	2	2	1	1	0	1	1	1	2
					1	0	1	4	0	2	3	0	1	0	0	3	4	2	2	0	2	1	2	1

[illegible]

No	Date	Echantillon	-13-	Incubat																					
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
					0	3	1	2	0	2	1	0	0	0	3	2	0	0	1	0	0	1	0	0	64
					0	5	2	3	0	3	1	0	0	0	5	5	0	0	1	0	0	1	0	0	65
					0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	66
					0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	67
					0	2	2	1	0	1	0	0	0	1	2	2	0	0	1	0	0	1	0	0	68
					0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	69
					0	2	2	2	0	5	2	1	0	1	5	5	1	3	5	0	0	2	0	0	70
					0	1	1	1	0	3	0	0	0	0	2	2	0	0	1	0	0	0	0	0	71
					0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	2	2	0	0	4	0	0	1	0	0	72
					0	2	2	2	0	2	0	1	0	1	2	2	0	1	1	0	0	1	0	0	73
					0	1	1	1	0	2	0	1	0	0	3	3	0	2	3	0	0	3	0	0	74
					0	3	1	1	0	3	1	1	0	1	5	5	0	1	4	0	0	3	0	0	75
					0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	4	0	0	1	0	0	76
					0	2	0	0	0	2	0	0	0	1	2	2	0	0	2	0	0	1	0	0	77
					0	2	1	1	0	2	0	0	0	1	2	2	0	0	2	0	0	1	0	0	78
					0	2	1	1	0	3	0	0	0	0	3	3	0	1	3	0	0	1	0	0	79
					0	2	0	0	0	2	1	0	0	0	2	2	0	0	2	0	0	1	0	0	80
					0	1	2	1	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	0	1	0	0	81
					0	2	1	1	0	4	0	0	0	0	4	4	0	0	3	0	0	1	0	0	82
					0	2	1	1	0	4	0	0	0	0	3	3	0	0	3	0	0	1	0	0	83

Date		Echantillon	-14-		Incubat																				
					21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	
					0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	2	1	1	1	2	3	64
						2									2	0	2	2	0	1	2	0	2	3	65
																1	0	2	0	1	1	0	2	2	66
						0									1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	67
						1									1	0	1	1	0	1	1	0	2	2	68
						0									1	0	2	0	1	1	1	0	3	3	69
															3	0	5	5	0	3	3	1	5	5	70
															2	0	2	2	0	1	1	0	2	3	71
						0	0	2	1	1	0	2	0	0	0	1	0	1	2	0	1	1	0	2	72
						0	0	2	2	0	0	1	0	0	0	1	0	2	0	1	1	0	2	2	73
						0	3	0							2/3	1	0	3	3	0	1	2	0	3	74
						1									2	0	3	2	0	1	1	0	4	4	75
						0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	0	1	1	0	4	4	76
															2	0	3	3	0	1	2	0	4	4	77
						1									2	0	3	3	0	1	1	0	4	4	78
															2	0	3	3	0	1	1	0	4	4	79
						0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	2	2	0	1	1	0	2	2	80
															1	0	2	2	0	1	1	0	2	2	81
															1	0	3	3	0	0	2	0	4	4	82
															2	0	3	3	0	1	2	0	4	4	83

No	Date	Echantillon	-15-	Incubate	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
					1	0	1	2	0	1	3	0	0	0	0	2	2	1	1	1	1	1	1	1
					0	0	1	3	0	1	2	0	0	0	0	2	1	1	1	0	1	1	1	64
					0	0	1	3	0	1	2	0	0	0	0	2	1	1	1	0	1	1	1	65
					0	0	1	2	0	1	2	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	66
					0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	67
					0	0	1	2	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	68
					0	0	1	2	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	79
					1	0	3	3	1	4	3	1	3	0	0	5	3	3	4	4	4	4	0	70
					0	0	1	3	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	71
					2	0	1	2	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	2	72
					1	0	1	2	0	0	1	2	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	73
					0	0	2	2	0	2	1	1	2	0	0	3	2	2	3	2	2	2	0	74
					0	0	3	4	0	2	2	0	2	0	0	2	1	1	1	1	1	1	0	75
					0	0	1	2	0	1	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1	76
					0	0	1	2	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	77
					0	0	2	3	0	1	2	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	78
					0	0	1	2	0	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	79
					0	0	1	2	0	1	1	0	1	0	0	2	1	1	1	1	1	2	0	80
					1	0	1	2	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	81
					0	0	1	3	0	0	1	0	0	0	0	2	0	1	1	1	1	1	0	82
					0	0	2	5	0	1	2	0	1	0	0	2	0	1	1	0	1	1	2	83

No	Date	Echantillon	-17-	Incuba																						
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
					0	1	1	1	0	3	3	0	1	0	1	5	4	0	2	5	0	0	2	0	0	84
					0	1	1	1	0	0	2	0	2	0	0	3	4	0	2	4	0	0	3	0	0	85
					0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	86
					0	1	2	2	0	0	2	0	2	1	0	4	4	0	2	5	0	0	3	0	0	87
					0	1	3	3	0	0	2	0	2	1	0	4	5	0	3	5	0	0	3	0	0	88
					0	1	2	1	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	0	5	0	0	1	0	0	89
					0	2	1	1	0	0	2	0	2	1	0	3	3	0	1	4	0	0	1	0	0	90
					0	1	0	0	0	0	2	0	2	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	91
					0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	1	2	2	0	0	2	0	0	0	0	0	92
					0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	93
					0	1	1	1	0	0	3	0	1	0	1	3	4	0	2	2	0	0	1	0	0	94
					0	1	2	2	0	0	4	2	1	0	0	4	5	0	1	3	0	0	2	0	0	95
					0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	96
					0	2	2	2	0	0	2	0	1	0	0	4	4	0	1	2	0	0	1	0	0	97
					0	1	1	1	0	0	2	0	1	0	0	5	5	0	1	2	0	0	3	0	0	98
					0	4	2	2	0	0	5	1	1	0	0	4	4	0	4	4	0	1	3	0	1	99
					0	2	1	1	0	0	2	1	0	0	0	2	1	0	0	2	0	0	1	0	0	100
					0	4	1	1	0	0	3	1	1	0	0	4	4	0	3	3	0	1	4	0	0	101
					0	5	2	3	0	0	4	2	2	0	0	5	5	0	4	5	0	1	5	0	1	102
					0	4	1	2	1	0	4	2	2	0	0	5	5	0	2	5	0	0	4	0	0	103
					0	1	1	2	0	0	2	1	1	0	0	3	3	0	2	2	0	0	3	0	0	104

Date	Echantillon	-18-	Incubat.																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									
			21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37		38	39	40																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					
																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												</

No	Date	Echantillon	-19-	Incubation	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
					1	0	2	2	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	84
					1	0	5	5	0	5	1	1	4	0	0	3	1	1	2	2	3	3	0	85
					0	0	1	2	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	86
					0	0	3	3	0	4	2	1	2	0	0	3	2	0	3	3	2	3	0	87
					0	0	3	3	0	3	2	1	2	0	0	4	3	1	4	4	4	4	0	88
					1	0	2	2	0	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	89
					0	0	2	3	0	1	1	0	1	0	0	2	0	1	1	1	1	1	0	90
					0	0	1	2	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	91
					0	0	1	2	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	92
					0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	93
					1	0	3	4	0	1	3	1	1	2	0	2	1	1	2	1	1	1	0	94
					1	0	3	3	0	0	2	2	0	1	0	2	1	0	0	1	1	0	0	95
					0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	96
					0	0	3	4	0	3	2	0	2	0	0	2	0	1	1	1	1	3	0	97
					0	0	2	2	0	2	1	0	1	0	0	1	1	2	2	2	2	2	1	98
					1	0	4	0	4	2	5	4	4	5	0	5	3	3	5	4	4	4	1	99
					1	0	1	0	2	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	100
					1	0	4	0	5	1	5	4	3	5	0	4	2	1	4	4	5	4	1	101
					1	0	3	0	4	2	5	5	4	4	0	3	2	2	3	3	3	3	1	102
					1	0	3	0	4	1	4	2	2	3	0	5	4	3	4	3	3	3	0	103
					1	0	3	0	4	1	4	2	2	4	0	2	1	2	2	2	2	2	1	104

[illegible]

Date	Echantillon	-21-	Incuba																				
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
				1	4	3	3	1	4	1	2	0	0	5	5	0	4	5	0	1	4	0	1
				0	2	1	1	0	3	1	1	0	0	4	4	0	2	3	0	0	3	0	0
				0	2	1	1	1	2	1	1	0	0	4	4	0	2	3	0	1	2	0	0
				0	2	1	1	0	4	1	1	0	0	3	4	0	2	4	0	0	1	0	0
				0	2	1	1	0	3	0	1	0	0	2	3	0	2	4	0	0	2	0	0
				0	5	1	2	0	4	2	1	0	0	4	4	0	2	3	0	0	4	0	0
				0	2	1	1	0	3	0	0	0	0	3	3	0	1	4	0	0	2	0	0
				0	2	1	0	0	2	0	0	0	0	3	3	0	1	4	0	0	1	0	0
				0	1	1	1	0	2	0	1	0	0	2	2	0	0	1	0	0	1	0	0
				0	2	1	1	0	1	0	1	0	0	2	2	0	0	5	0	0	1	0	0
				0	1	1	1	0	2	2	0	0	1	3	2	0	1	1	0	0	1	0	0
				0	1	2	1	0	2	0	0	0	1	2	2	0	0	0	0	0	1	0	0
				0	4	2	3	0	4	1	2	0	0	5	5	1	3	5	1	1	4	0	2
				0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0
				0	1	1	1	0	2	0	0	0	0	3	3	0	1	2	0	0	1	0	0
				0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	2	2	0	1	1	0	0	2	0	0
				0	2	1	1	0	2	0	1	0	0	3	3	0	1	2	0	0	1	0	0
				0	3	1	1	0	3	0	1	0	0	4	4	0	1	2	0	0	2	0	0
				0	2	1	1	0	1	0	1	0	0	4	4	0	1	2	0	0	1	0	0
				0	5	1	5	0	3	0	1	0	0	5	5	0	0	2	0	0	2	0	0
				0	2	1	1	0	1	0	1	0	0	4	3	0	1	2	0	0	0	0	0
				0	2	1	1	0	1	0	1	0	0	4	3	0	1	2	0	0	0	0	0
				0	2	1	1	0	1	0	1	0	0	4	4	0	1	2	0	0	2	0	0
				0	5	1	5	0	3	0	1	0	0	5	5	0	0	2	0	0	2	0	0
				0	2	1	1	0	1	0	1	0	0	4	3	0	1	2	0	0	0	0	0

Date	Echantillon	-22-	Incubat.																				
			21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	
			1	0	1	1	0	1	0	0	2	0	3	1	5	5	2	3	3	3	5	4	105
			1	0	2	1	1	0	1	0	1	0	2	0	4	4	2	3	3	3	3	3	106
			0	0	2	2	2	1	1	0	0	0	3	0	5	5	1	2	2	2	5	3	107
													2	0	4	4	0	1	1	1	5	3	108
				1							$\frac{2}{3}$		1	0	3	3	0	2	2	1	4	2	109
			0	3	1	1	1	1	0	0	5	0	2	0	2	2	1	2	3	2	2	2	110
			0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	2	0	3	3	1	2	2	2	2	2	111
			0	0	0	1	1	0	0	0	1?	0	2	0	3	3	0	1	1	1	1	2	112
													2	0	3	3	0	1	1	0	3	3	113
													3	0	5	5	0	2	2	1	5	5	114
													1	0	2	2	0	0	0	2	2	2	115
													1	0	2	2	0	1	1	0	2	2	116
			1	4									4	1	5	5	1	4	4	1	4	4	117
			0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	2	3	0	1	1	0	3	2	118
													1	0	3	3	0	1	1	0	3	3	119
			0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	1	3	0	0	0	0	2	1	120
													2	0	5	5	0	1	1	0	5	4	121
													2	0	3	5	0	2	2	0	5	4	122
													1	0	4	4	0	1	1	0	5	4	123
													3	0	3	5	0	1	1	1	5	5	124
													1	0	2	3	0	1	1	0	3	2	125
			0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	2	3	0	1	1	0	4	3	126

No	Date	Echantillon	-23-	Incubation	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
					1	0	3	0	4	1	6	4	3	3	0	4	3	1	4	3	3	3	0	105
					1	0	2	0	4	1	3	3	1	2	0	3	3	1	2	2	2	2	0	106
					1	0	2	0	3	1	3	2	1	3	0	2	2	1	2	2	2	2	0	107
					1	0	2	0	2	0	0	1	0	0	0	2	2	0	2	1	2	2	0	108
					0	0	2	0	2	2	1	0	2	0	0	3	2	1	3	2	2	2	0	109
					0	0	2	2	0	2	1	1	2	0	3	3	1	2	2	2	2	2	0	110
					0	0	2	2	0	2	1	0	2	0	0	1	3	1	2	2	2	2	0	111
					0	0	2	2	0	2	1	1	2	0	0	2	2	0	1	1	1	1	0	112
					0	0	2	3	0	1	3	0	1	0	0	2	1	1	1	1	1	1	0	113
					0	0	3	3	0	1	1	0	1	0	0	2	1	0	2	2	2	2	0	114
					1	0	2	0	2	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	115
					1	0	1	0	1	0	1/2	1/2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	116
					0	0	4	4	2	5	5	2	5	0	0	5	3	3	5	5	5	5	2	117
					1	0	2	0	2	0	1	2	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	118
					0	0	2	2	0	2	2	0	2	0	0	2	1	0	1	1	1	1	0	119
					1	0	1	0	2	0	1	3	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	120
					0	0	3	3	0	1	2	0	1	0	0	2	0	0	1	1	1	2	0	121
					0	0	3	3	0	2	2	0	1	0	0	3	1	0	2	2	2	3	0	122
					0	0	2	2	0	1	1	0	1	0	0	2	1	0	1	1	1	1	0	123
					4	0	1	4	0	0	5	1	3	0	0	3	1	1	1	0	0	1	0	124
					0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	125

Date	Echantillon	-24-	Incubat.										
			61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	
					1			2					105
					2			4		1			106
					2		1	4		3			107
					2	2		4	2	2			108
					3			3		2			109
					3			4	2				110
					3			3	2				111
					2			3	1				112
								3					113
					3			3					114
					2	1		5	1	3			115
					1			2		2		2	116
					3			2		3			117
					3			4		2			118
					3			3		1			119
								2					120
					3			3		3			121
					3			3					122
					1			2		1			123
								4					124
					1			1					125
					2								126

B I B L I O G R A P H I E

ABE M.

Japan J. Obst. Gyn. 1933, 16, 225

ALBRESCHTEN O.K. - TROLLE D.

Acta Haemat 1955, 14, 376

ANTONIONI E. - FIORETTI P. - DE MARCO C.

Experientia 1957, 13/9, 357-8

ASCENCIO BRETONES - VALVERDE et coll.

An Casa Salud Valdecilla 1956, 17, 329-37

BASTIDE P. - BAUDON J. - DASTUGUE G. - REBIERE J.P.

Ann. Biol. Clin. 1960, 5/6, 307

BAUDON J. - BASTIDE P. - CARCASSIN M. - DASTUGUE G.

Path. Biol. 1960, 8, 487-92

BAUDON J. - BASTIDE P. - CARCASSIN M. - DASTUGUE G.

Sem. des Hôpitaux 1960, 5/6, 487

BLUM M. - COHEN E. - SHABTAY F. - HALBRECHT I.

Rev. Franç. Gyn. 1975, 70, 639

BONSNES R.

Clinical Obst. Gyn. 1966, 9/2

BOOTH C.W. - CHEN K.K. - NADLER H.L.

J. Pediatrics 1975, 86, 560

BRZEŹINSKI A. - KOREN Z. et coll.

J. Obst. Gyn. Brit. Cmwth 1962, 69, 661

BUISSIERE J. - FOURCARD A. - COLOBERT L.

C.R. Acad. Sci. 264, 415-417, Série D

BUTTERWORTH J. - BROADHEAD D.M. - SUTHERLAND G.R. - BAIN A.D.

Amer. J. Obstet. Gynec. 1974, 119, 82

CACCIARI E. - MANFREDI G. et coll.

Clinica Paediatrica 1959, 41/6, 476

CANDIANI G.B.

Ann. Ost. Gin. 1958, 3, 80

CAYLA J. - FABRE F.

C.R. Soc. Biol. 1935, 120, 748

CLOPPET

Thèse de Doctorat en Médecine, Université de Lyon 1976, 1-135

DAVID A. - FIASSON J.L.

Bull. Soc. Lin Lyon 1977, 9, 304-320

DAY R.P. - LUETSCHER J.A. - GONZALES C.M.

J. Clin. Endocr. Métab. 1975, 40, 1078

DELMAS C.

Thèse de Doctorat en Médecine, Université de Lyon 1977, 158, 1-61

DHALQUIST A. - LINDBERG T.

Clin. Sci. 1966, 30, 517-528

DOBRYSYCKA W. et coll.

Enzymologia 1970, 39, 166-76

DONSKIV N.V. - INANOVA

Akush. Ginek. 1963, 39, 79-81

DUMONT M. - BERGER R.

Lyon Médical 1948, 179/5, 69

EGGERMONT E.

Neonat 1966, 10, 266-280

ELIAKIS E. - COUTSELINIS A.

Med. Leg. et Domm. Corp. 1971, 4, 163-168

ELSAS L.J. - PRIEST J.H. - WHEELER F.B. - DANNER D.J. - PASK B.A.

Métab. Clin. Exp. 1974, 23, 569

EPSTEIN C.J. - BRADY R.O. - SCHNEIDERE L. - BRADLEY R.M. - SHAPIRO D.

Amer. J. Hum. Génét. 1971, 23, 533

FERNANDEZ DE CASTRO A. - USATEGUI-GOMEZ M. - SPELLACY W.N.

Amer. J. Obstet. Gynec. 1973, 116, 931

FIOCCHI E. - ONETTI L.

Ann. Ost. Gin. 1960, 82, 279-84

FLEISHER L.D. - LONGHI P.C. - TALLAN H.H. - BERATIS N.G. - HIRSCHHORN K. -
GAULL G.E.

J. Pediatrics 1974, 85, 677

GALERNE D.

Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Clermont-Ferrand 1972, 40

GALERNE D. - DEROCHES A. - BAUDON J. - DASTUGUE G.

J. Gyn. Obst. Biol. Repr. 1973, 2, 969-985

GARNIER

Arch. Med. Exp. Anat. Path. 1903, 15, 785

GERVAIS A.

Rapport de stage de fin d'étude 1976, INSA, Biologie

GEYER H.

Z. Klin. Chem. 1970, 8, 141-4

GEYER H.

Z. Klin. Chem. u. Klin. Bioch. 1970, 8, 145-8

GILLET J.Y. - L'YVONNET M. et coll.

Cahiers de Médecine 1971, 12/13, 1081-86

GRAFFARD C.

DEA de Nutrition, Université de Caen, 1977, INA Grignon, 1-47

GRUNDIG C.A. - RUMLER W.

Acta Biol. Med. Gen. 1967, 19, 193-197

GUERIN - MENEZO - CZYBA

1st Pan American Congress of Andrology CARACAS Archivs of andrology 1979

GUILLERMET F.N. - NARDON P. - DUMONT J. - DESBRESLES A.M.B.

Rev. Inst. Pasteur Lyon 1976, 9, 275-289

HAHNEMANN N. - SOERENSEN S.A.

Acta Obstet. Gynec. Scand. Suppl. 1974, 29, 15

HAROLD - MARPER

Précis de Biochimie, Armand Colin - Paris 1965

HUMBLE N.W. - KING A. - PHILLIPS I.

J. Clin. Path. 1976, 30, 275-277

IMBAR M.

Thèse de Munich 1964

JUNG G. - DIEM R.

Arch. Gyn. 1959, 192/2, 155

KARCHMER S. et coll.

Gin. Obst. Mex. 1968, 24, 243-81

KELLEN J.A. - DRAHA KASPAR - LEUNG K.Y.

Enzym. Biol. Clin. 1970, 11, 429-34

KERENYI T. - SARKOZI L.

Obst. Gyn. 1974, 44, 215

KRAUZE M. et coll.

Folia Morph. (Warsz) 1968, 27, 377

KUBLI F.

Zblt. Gynak. 1961, 83/29, 1151

LAPAN B. - FRIEDMAN M. - IMBAR M.

Amer. J. Obst. Gyn. 1962, 83/10, 1337

LAPLAUD P.M. - TABASTE J.L. - BAUDET J.H.

Encycl. Méd. Chir., Paris Obstétrique, 6, 1977, 5006, A-20

LARSEN B. - GALASK R.P. - SNYDER I.S.

Obstet. Gynec. 1974, 44, 219

LAVIOLETTE P.

Groupe Lyonnais de Recherche en Biologie Cellulaire - Rapport annuel 1976

LITTLE W.A. - KIRPALANI G.

Amer. J. Obst. Gyn. 1962, 83, 1346-51

LJUNGH A. - NORD C.E.

Annual Meeting of American Society for Microbiology, Atlantic City USA, Mai 1976

MAC KAY HART D.

Histochemie 1966, 6/1, 17-23

MANDELBAUM B. - EVANS T.N.

Amer. J. Obst. Gyn. 1969, 104, 365-77

MATHIEU M. - BALTASSAT P. - PERNOUD N. - COLLOMBEL C. - COTTE J.

Trav. Soc. Pharm. Montpellier 1973, 33, 481

MELANCON S.B. - LEE S.Y. - NADLER H.L.

Science 1971, 173, 627

MENEZO et coll.

Contraception Fertilité Sexualité Vol. 7 n° 3, 209-211

MISCHEL W.

Zblt. Gynak 1960, 82/36, 1382

MONGET D.

Thèse de Doctorat en Science, Université de Lyon 1978, n° 297

MORIN P. - HANON F. et coll.

Bull. Fed. Soc. Gyn. Obst. 1960, 12, 37-41

NADLER H.L. - GERBIE A.B.

New Engl. J. Med. 1970, 282, 596

NARDON P. - BUISSIÈRE J. - DESGRANGES CL. - DIDIER-FICHET M.L. - de THE G.

C.R. Acad. Sci. 277, 1417-1420, Série D

PARTENSKY L.

Lyon Médical 1960, 204/52, 1397

PAYSANT P. - GENETET F. et coll.

Biologie C.R. 1969, 163/7, 1665

PLENTL A.A.

Clin. Obst. Gyn. 1966, 9/2

POTIER M. - DALLAIRE L. - MELANCON S.B.

Biol. Neonate 1975, 27, 141

RYAN C.A. - LEE S.Y. - NADLER H.L.

Exp. Cell. Res. 1972, 71, 388

SANTONI G.

Ann. Ost. Gin. 1958, 80/1, 70-8

SANTONI G.

Ann. Ost. Gin. 1958, 80, 61-9

SANTONI G.

Atti. Soc. It. Ost. Gin. 1958, 46, 305

SCHUMACHER J.C. - KOEHL C. - ABECASSIS J. - BOOG G. - WALCH R. - GANDAR R.

Rev. Franç. Gyn. 1976, 71, 235

SCHWARZ E.

Ann. Pediat. 1953, 181, 306-319

SEELICH F. - EHRLICH GOMOLKA H.

Enzymologia 1951, 15/2, 96

SKINNER S.L. - LUMBERS E. - SYMONDS E.M.

Amer. J. Obst. Gyn. 1968, 101; 529-33

SLUNSKY R.

Akush i. Gynak 1960, 2, 48

SUTCHLIFFE R.G. - BROCK D.J.H. - ROBERTSON J.G. - SCRIMGEOUR J.B. - MONAGHAN J.

J. Obst. Gyn. Brit. Cwlth 1972, 79, 895

TAKIMOTO M. - MATSUDA I.

Biol. Néonat. 1971, 18, 66-70

THARAGONNET D. - SISSON P.R. - ROXBY C.M. - INGHAM H.R. - SELKON J.B.

J. Clin. Path. 1977, 30

TORRINHA J.F. - LEITE L.P.

Amer. J. Obst. Gyn. 169, 105, 248

TOSCHI P. - CHIRILLO R.

Attual. Ost. Gin. 1968, 14, 519-22

WAGNER G.

Geburtsch. Fravenh 1958, 4, 405

WAITKINS S.A.

2nd International Symposium on rapid methods and automation in microbiology
Cambridge September 1976

WOLF R.O. - TAUSSIG L.M.

Obst. Gyn. 1973, 41, 337

WOYTON J. - DOBRYSZYCKA W.

Polski Tygod. Lek. 1969, 24, 1085

YSCLA A.A. - SABATER J.F.

Laboratorio 1976, 57, 223-239

ZELNICEK E. - TOVAREK J.

Clin. Chim. Acta 1961, 6, 464-6

<u>INTRODUCTION</u>	P.	1
<u>CHAPITRE I</u>		
DEFINITION ET RAPPELS BIOCHIMIQUES	P.	3
<u>CHAPITRE II</u>		
SYSTEME API ZYM ET TECHNIQUE DE DOSAGE	P.	8
<u>CHAPITRE III</u>		
RESULTATS OBTENUS DANS DIFFERENTS DOMAINES D'APPLICATION ..	P.	21
1 - ENZYMOLOGIE CELLULAIRE	P.	22
A - Etude enzymatique de deux lignées cellulaires d'insectes	P.	22
B - Etude enzymatique comparative de trois lignées lymphoblastoïdes humaines issues de lymphomes de Burkitt et d'une lignée lymphoïde saine	P.	23
C - Etude du spermatozoïde humain et effets in vitro du chlorure de Benzalkonium	P.	23
2 - ENZYMOLOGIE APPLIQUEE A LA BACTERIOLOGIE	P.	24
A - Microtechnique pour l'identification rapide des principaux streptocoques	P.	24
B - Autres identifications bactériennes	P.	26
3 - ENZYMOLOGIE APPLIQUEE A L'INDUSTRIE LAITIERE	P.	27
4 - CONCLUSION	P.	27
<u>CHAPITRE IV</u>		
APPLICATIONS DES MICROTESTS EN GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE	P.	28
<u>CHAPITRE IV</u>		
LIQUIDES AMNIOTIQUES	P.	29
<u>DESHYDROGENASES</u>	P.	33
1 - glucose-6-phosphate deshydrogénase	P.	34 - 145 - 170
2 - 6-phospho-gluconate deshydrogénase	P.	36 - 146 - 171
3 - lactate deshydrogénase	P.	37 - 145 - 171
4 - malate deshydrogénase	P.	39 - 146 - 171
5 - succinate	P.	40 - 129 - 161
6 - DL isocitrate	P.	40 - 129 - 170
7 - DL-glycerophosphate deshydrogénase	P.	41 - 145 - 170
8 - xanthine	P.	41 - 129 - 161

9 - hydroxy-stéroïdes	P. 41
10 - Mono-aminoxydase	P. 42
11 - DAO - diamine-oxydase ou histaminase	P. 42
12 - NADH 2 réductase	P. 43
12 - phenylène-diamine-oxydase	P. 43
<u>TRANSFERASES</u>	P. 44
I - TRANSAMINASES	P. 44
A - G O T	P. 44
B - T G P	P. 44
II - CREATININE-PHOSPHO-KINASE	P. 44
<u>HYDROLASES</u>	P. 46
I - TRIBUTYRINASES	P. 46
II - LIPASES ET ESTERASES	P. 46
A - lipases	P. 46 - 131 - 162
B - estérases	P. 47 - 130 - 162
C - estérase lipase	P. 48 - 130 - 162
D - cholinesterase	P. 49
III - PHOSPHATASES	P. 49
1 - phosphatases non spécifiques	P. 49
A - phosphatase alcaline	P. 49 - 130 - 162
B - phosphatase acide	P. 52 - 132 - 163
C - phosphoamidases	P. 53 - 133 - 163
D - phosphodiestérase	P. 54 - 134 - 164
IV - 5' NUCLEOTIDASE	P. 55
V - GLUCOSE-6-PHOSPHATE	P. 55
VI - AMYLASES	P. 55
VII - SPHINGOMYELASE	P. 55
VIII - ARYL-SULFATASE	P. 55 - 136 - 165
IX - HYALURONIDASE	P. 56
X - LYSOZYME ou MURAMIDASE	P. 56
<u>HYDROLASES - GLYCOSIDASES</u>	P. 57
I - galactosidase	P. 58 - 129 - 161
II - galactosidase	P. 58 - 133 - 163
III - glucuronidase	P. 59 - 133 - 163
IV - glucosidase	P. 60 - 129 - 161
V - glucosidase	P. 61 - 129 - 163

VI - glucosaminidase	P. 61 - 134 - 164
VII - mannosidase	P. 62 - 129 - 164
VIII - fucosidase	P. 62 - 129 - 164
IX - D fucosidase	P. 63 - 129 - 164
L fucosidase	P. 63 - 135 - 165
X - N-acétyl- -D-glucosaminidase	P. 63 - 129 - 165
XI - arabinosidase	P. 63 - 136 - 165
XII - autres glycosidases	P. 63
D-xylosidase	P. 63 - 134 - 164
D-xylosidase	P. 63 - 129 - 164
lactosidase	P. 63 - 135 - 165
cellobiosidase	P. 63 - 129 - 161
<u>HYDROLASES - AMINOPEPTIDASES ET PROTEINASES</u>	P. 64
I - leucine aminopeptidase	P. 66 - 131 - 162
II - valine aminopeptidase	P. 67 - 131 - 162
III - cystine aminopeptidase ou ocytocinase	P. 69 - 132 - 162
IV - tyrosyl aminopeptidase	P. 70 - 136 - 165
V - pyrrolidonyl aminopeptidase	P. 71 - 129 - 166
VI - phenylalanyl aminopeptidase	P. 72 - 137 - 166
VII - lysyl aminopeptidase	P. 73 - 137 - 166
VIII - hydroxyprolyl aminopeptidase	P. 74 - 137 - 166
IX - histidyl aminopeptidase	P. 75 - 138 - 166
X - glycyl aminopeptidase	P. 76 - 138 - 166
XI - aspartyl aminopeptidase	P. 76 - 138 - 167
XII - arginyl aminopeptidase	P. 78 - 139 - 167
XIII - alanyl aminopeptidase	P. 79 - 139 - 167
XIV - glutamyl aminopeptidase	P. 79 - 139 - 167
XV - N benzoyl-L-leucyl aminopeptidase	P. 80 - 129 - 168
XVI - S benzoyl-L-cysteine aminopeptidase	P. 81 - 140 - 167
XVII - N glutaryl-L-phenylalanine aminopeptidase	P. 82 - 140 - 161
XVIII - DL méthionine aminopeptidase	P. 83 - 129 - 167
XIX - glycyl-glycine aminopeptidase	P. 84 - 140 - 168
XX - glycyl-L-phenylalanine aminopeptidase	P. 84 - 141 - 168
XXI - glycyl-L-prolyl aminopeptidase	P. 85 - 141 - 168
XXII - L-leucyl-glycine aminopeptidase	P. 87 - 141 - 168
XXIII - L-seryl-L-tyrosine aminopeptidase	P. 87 - 142 - 168
XXIV - N-CBZ-L-arginine aminopeptidase	P. 88 - 129 - 168

XXV - L-glutamine aminopeptidase	P. 89 - 142 - 169
XXVI - L-glutamyl aminopeptidase	P. 89 - 142 - 169
XXVII - L-isoleucine aminopeptidase	P. 90 - 143 - 169
XXVIII - L-ornithine aminopeptidase	P. 91 - 143 - 169
XXIX - L-proline aminopeptidase	P. 92 - 143 - 169
XXX - L-serine aminopeptidase	P. 93 - 144 - 169
XXXI - thréonine aminopeptidase	P. 94 - 144 - 170
XXXII - L-tryptophane aminopeptidase	P. 94 - 144 - 170
XXXIII - N-CBZ-glycylglycine-L-arginine- -aminopeptidase	P. 95 - 129 - 170
XXXIV - guanine déaminase	P. 95

PROTEINASES

I - pepsinogène et pepsine	P. 96
II - trypsine	P. 96 - 129 - 161
III - chymotrypsine	P. 96 - 132 - 161
IV - rénine	P. 97
V - thrombokinasé	P. 98
VI - ceto acides-decarboxylase	P. 98

LYASE

I - aldolase	P. 99
II - anhydrase carbonique	P. 99
III - cystothionine synthétase	P. 99
IV - histidase	P. 99

ISOMERASE

I - ribose 5 phosphate - isomérase	P. 100
II - phosphohexose isomérase	P. 100

CHAPITRE V

LIQUIDES AMNIOTIQUES

ZYMOGRAMME DES DIFFERENTS CAS ETUDIES

A - liquides prélevés intra partum	P. 103
B - liquides méconiaux à terme	P. 105
C - termes dépassés	P. 107
D - étude de plusieurs profils enzymatiques sur le même liquide à des âges différents	P. 109
E - liquides de fœtus morts in utéro	P. 113
F - liquides amniotiques et malformations crâniennes	P. 116
G - hydramnios	P. 119
H - liquide amniotique et iso-immunisation	P. 121

CHAPITRE VI

EQUIPEMENT ENZYMATIQUE DU MECONIUM	P. 123
--	--------

CHAPITRE VII

RECHERCHE ENZYMATIQUE DANS LE DOMAINE GYNECOLOGIQUE	P. 128
A - Seins	P. 129
Analyse des activités enzymatiques présentes	P. 129
Sein normal	P. 149
Pathologie bénigne du sein	P. 151
Mastose fibro-kystique	P. 153
Cancer du sein	P. 155
Tumeur phyllode	P. 159
B - Endomètres	P. 161
Etude des diverses activités enzymatiques présentes	P. 162
Hyperplasies de l'endomètre	P. 173
Adénocarcinome de l'endomètre	P. 175
C - Myomes utérins	P. 177
D - Col utérin	P. 181
Kyste du paraophore	P. 183
E - Ovaires	P. 184
Ovaire normal	P. 185
Pathologie ovarienne bénigne	P. 187
Cystadénome séreux	P. 189
Tumeur maligne de l'ovaire	P. 191
CONCLUSION	P. 193
LISTE DES CAS ETUDIES	P. 195
BIBLIOGRAPHIE	P. 199

CONCLUSIONS

L'enzymologie a depuis une vingtaine d'années sa place en biologie médicale. Ce chapitre de la biochimie moderne est pourtant encore mal connu ; les recherches s'orientent en particulier sur le rôle de certaines enzymes et leur régulation.

Le liquide amniotique a été relativement bien inventorié par trois techniques : étude enzymatique directe, cultures cellulaires, histoenzymologie placentaire.

Le système API ZYM (commercialisé par API SYSTEM S.A. 38390 MONTALIEU VERCIEU) que nous avons utilisé se distingue des méthodes traditionnelles de dosage, par la possibilité d'obtenir un "screening enzymatique" constitué de 70 activités dont 35 aminopeptidases.

Dans ce premier travail nous nous sommes fixés comme objectif une étude plurifocale : *liquide amniotique (61 cas) - normal et méconial, pendant l'accouchement - à partir de la 27e semaine dans les grossesses pathologiques (souffrance et mort foetale, malformation du tube neural, hydramnios, iso-immunisation rhésus, terme dépassé).

*équipement enzymatique du méconium

*Sein, endomètre, col utérin, ovaire (70 cas)

Nous avons d'abord étudié chaque activité enzymatique séparément, puis établi un profil des cas pathologiques : ceux-ci sont perturbés par rapport à notre moyenne générale, mais il n'est pas possible pour l'instant d'associer une anomalie du zymogramme à une pathologie précise.

Le faible prix de revient, la simplicité de mise en oeuvre, la fiabilité des résultats par rapport aux méthodes traditionnelles d'analyse enzymatique, peuvent laisser espérer que ce système de microtests pourra être appliqué dans d'autres domaines et surtout à plus grande échelle, comme moyen de dépistage, en recherchant par exemple, si les modifications du profil enzymatique amniotique se retrouvent dans le sérum ou les urines maternelles.

Le Président de la Thèse

[Signature]
F. CHARRAT

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LYON, le

2 JUL. 1979

Le Président de l'Université
CLAUDE BERNARD LYON I

